

Vysoká škola báňská - Technická univerzita Ostrava

Univerzitní studijní programy

Stabilita nanočástic oxidu zinečnatého
v isopropylmyristátové suspenzi

Stability of zinc oxide nanoparticles in isopropyl
myristate suspension

Student:

Bc. Julie Smijová

Vedoucí diplomové práce:

Ing. Karla Čech Barabaszová, Ph.D.

Ostrava 2019

Zadání diplomové práce

Student: **Bc. Julie Smijová**

Studijní program: N3942 Nanotechnologie

Studijní obor: 3942T001 Nanotechnologie

Téma: **Stabilita nanočástic oxidu zinečnatého v isopropylmyristátové suspenzi**
Stability of zinc oxide nanoparticles in isopropyl myristate suspension

Jazyk vypracování: čeština

Zásady pro vypracování:

Cílem diplomové práce je dlouhodobé sledování stability nanostrukturovaných materiálů na bázi oxidu zinečnatého v olejové suspenzi kosmetické čistoty.

Teoretická část práce bude řešena formou literární rešerše na téma: nanočástice oxidu zinečnatého v kosmetickém průmyslu, oleje a suspenze na bázi isopropylmyristátu, metody přípravy nanokompozitních materiálů na bázi olejů/suspenzí pro kosmetické účely.

V rámci experimentální části bude sada vzorků (a) komerčních nanočástic ZnO, (b) mechanochemicky připravených nanočástic ZnO a (c) částic nanokompozitu ZnO/vermikulit pomocí mlecích technik zamíchána do olejové suspenze na bázi isopropylmyristátu. Bude sledována stabilita suspenzí v časové ose z hlediska velikosti částic, jejich aglomerace a Zeta-potenciálu. Bude stanoven toxický účinek na modelové molekule kyseliny linolové. Diplomová práce bude řešena ve spolupráci se společností Bochemie a.s.

Seznam doporučené odborné literatury:

RAJESHKUMAR, N.V., ANNAMMA, A.O., ARVIND, M.L. Green synthesis of isopropyl myristate in novel single phase medium Part I: Batch optimization studies. *Biotechnology Reports* 2015, Vol. 8, p. 133-137.

RAJESHKUMAR, N.V., ANNAMMA, A.O., ARVIND, M.L. Green synthesis of isopropyl myristate in novel single phase medium Part II: Packed bed reactor (PBR) studies. *Biotechnology Reports* 2015, Vol. 8, p. 105-109.

SOUMIK, B., KAUSHIK, K., SWAPAN, K.S., BIDYUT, K.P. Physicochemical studies of mixed surfactant microemulsions with isopropyl myristate as oil. *Journal of Colloid and Interface Science* 2013, Vol. 402, p. 180-189.

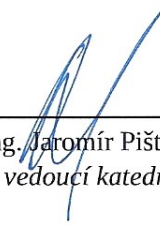
GUPTA, A., BURAK ERAL, H., HATTON, T.A., DOYLE, P.S. Nanoemulsions: formation, properties and applications. *Soft Matter* 2016, Vol. 12(11), p. 2826-2841.

Formální náležitosti a rozsah diplomové práce stanoví pokyny pro vypracování zveřejněné na webových stránkách fakulty.


Vedoucí diplomové práce: **Ing. Karla Čech Barabaszová, Ph.D.**

Datum zadání: 29.11.2018

Datum odevzdání: 15.05.2019



prof. Ing. Jaromír Pištora, CSc.
vedoucí katedry



Ing. Zdeňka Chmelíková, Ph.D.
prorektorka pro studium

Zásady pro vypracování diplomové práce

I.

Diplomovou prací (dále jen DP) se ověřují vědomosti a dovednosti, které student získal během studia, a jeho schopnosti využívat je při řešení teoretických i praktických problémů.

II.

Uspořádání diplomové práce:

- | | |
|--|--|
| 1. Titulní list | 6. Abstrakt + klíčová slova česky a anglicky |
| 2. Originál zadání DP | 7. Obsah DP |
| 3. Zásady pro vypracování DP | 8. Textová část DP |
| 4. Prohlášení + místopřísežné prohlášení | 9. Seznam použité literatury |
| 5. Prohlášení spolupracující právnické nebo fyzické osoby o souhlasu se zveřejněním DP | 10. Přílohy |

ad 1) Titulní list je koncipován podle požadavků příslušné oborové katedry.

ad 2) Originál zadání DP student obdrží na své oborové katedře.

ad 3) Tyto „Zásady pro vypracování diplomové práce“ následují za originálem zadání DP.

ad 4) Prohlášení + místopřísežné prohlášení napsané na zvláštním a vlastnoručně podepsané studentem s uvedením data odevzdání DP.

ad 5) V případě, že DP vychází ze spolupráce s jinými právnickými a fyzickými osobami a obsahuje citlivé údaje, je na zvláštním listě vloženo prohlášení spolupracující právnické nebo fyzické osoby o souhlasu se zveřejněním DP.

ad 6) Abstrakt a klíčová slova jsou uvedena na zvláštním listu česky a anglicky v rozsahu max. 1 strany pro obě jazykové verze.

ad 7) Obsah DP se uvádí na zvláštním listu. Zahrnuje názvy všech očíslovaných kapitol, podkapitol a statí textové části DP, odkaz na seznam příloh a seznam použité literatury s uvedením příslušné stránky. Předpokládá se desetinné číslování.

ad 8) Textová část DP obvykle zahrnuje:

- Úvod, obsahující charakteristiku řešeného problému a cíle jeho řešení v souladu se zadáním DP;
- Vlastní rozpracování DP (včetně obrázků, tabulek, výpočtů) s dílčími závěry vhodně členěné do kapitol a podkapitol podle povahy problému;
- Závěr, obsahující celkové hodnocení výsledků DP z hlediska stanoveného zadání.

DP bude zpracována v rozsahu min. cca 45 stran (včetně obsahu a seznamu použité literatury).

Text musí být napsán vhodným textovým editorem počítače po jedné straně bílého nelesklého papíru formátu A4 při respektování následující doporučené úpravy - písmo Times New Roman 12b; řádkování 1,5; okraje – horní, dolní – 2,5 cm, levý – 3 cm, pravý 2 cm. Fotografie, schémata, obrázky, tabulky musí být očíslovány a musí na ně být v textu poukázáno. Budou zařazeny průběžně v textu, pouze je-li to nezbytně nutné, jako přílohy (viz ad 10).

Odborná terminologie práce musí odpovídat platným normám. Všechny výpočty musí být přehledně uspořádány tak, aby každý odborník byl schopen přezkoušet jejich správnost. Matematické vzorce musí být číslovány (v kulatých závorkách). U vzorců, údajů a hodnot převzatých z odborné literatury nebo z praxe musí být uveden jejich pramen - u literatury citován číselným odkazem (v hranatých závorkách) na seznam použité literatury. Nedostatky ve způsobu vyjadřování, nedostatky gramatické, neopravené chyby v textu mohou snížit klasifikaci práce.

- ad 9) DP bude obsahovat alespoň 15 literárních odkazů, z toho nejméně 5 v některém ze světových jazyků. Seznam použité literatury se píše na zvláštním listě. Citaci literatury je nutno uvádět důsledně v souladu s ČSN ISO 690. Na práce uvedené v seznamu použité literatury musí být uveden odkaz v textu DP.
- ad 10) Přílohy budou obsahovat jen ty části (speciální výpočty, zdrojové texty programů aj.), které nelze vhodně včlenit do vlastní textové části např. z důvodu ztráty srozumitelnosti.

III.

Diplomovou práci student odevzdá ve dvou knihařsky svázaných vyhotoveních, pokud katedra garantující studijní obor neurčí jiný počet. Vnější desky budou označeny takto:

nahoře: *Vysoká škola báňská - Technická univerzita Ostrava*

uprostřed: *DIPLOMOVÁ PRÁCE*

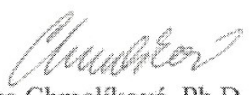
dole: *Rok* *Jméno a příjmení*

Kromě těchto dvou knihařsky svázaných výtisků odevzdá student kompletní práci také v elektronické formě do IS EDISON. Práce vložená v elektronické formě do IS EDISON se musí zcela shodovat s prací odevzdanou v tištěné formě. Po vložení DP do IS EDISON bude provedena její kontrola na plagiátorství.

IV.

Nesplnění výše uvedených zásad pro vypracování diplomové práce může být důvodem nepřijetí práce k obhajobě. O nepřijetí práce k obhajobě rozhoduje v tomto případě garant příslušného studijního oboru. Tyto zásady jsou závazné pro studenty navazujícího magisterského studijního programu Nanotechnologie Vysoké školy báňské – Technické univerzity Ostrava od akademického roku 2018/2019.

Ostrava 30. 11. 2018


Ing. Zdeňka Chmelíková, Ph.D.
prorektorka pro studium
VŠB-TU Ostrava

Místopřísežné prohlášení

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně a uvedla jsem všechny použité podklady a literaturu.

V Ostravě dne

podpis

Prohlášení o využití výsledků práce

Prohlašuji, že:

- jsem byla seznámena, že na moji diplomovou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména § 35 – užití díla v rámci občanských a náboženských obřadů, v rámci školních představení a užití díla školního a § 60 – školní dílo.
- беру на вѣдомі, že Vysoká škola báňská – Technická univerzita Ostrava (dále jen „VŠB – TUO“ má právo nevýdělečně ke své vnitřní potřebě diplomovou práci užít (§ 35 odst. 3).
- souhlasím s tím, že diplomová práce bude v elektronické podobě uložena v Ústřední knihovně VŠB – TUO k nahlédnutí a jeden výtisk bude uložen u vedoucího diplomové práce. Souhlasím s tím, že údaje o kvalifikační práci budou zveřejněny v informačním systému VŠB – TUO.
- bylo sjednáno, že s VŠB – TUO v případě zájmy z její strany, uzavřu licenční smlouvu s oprávněním užít dílo v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona.
- bylo sjednáno, že užít své dílo – bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití mohu jen se souhlasem VŠB – TUO, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly VŠB – TUO na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše).
- беру на вѣдомі, že odevzdáním své práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1988 Sb., o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů, bez ohledu na výsledek její obhajoby.

V Ostravě dne 10. 5. 2019

Julie Smijová

.....

Bílovecká 919/54, Opava, 74706

ABSTRAKT

Diplomová práce se zabývá analýzou stability připravených suspenzí a jejich schopností indukovat peroxidaci lipidů. V teoretické části jsou shrnuty obecné poznatky o nanočásticích oxidu zinečnatého (ZnO), suspenzích, emulzích a vermikulitu (VM). V rámci experimentální části byly připraveny isopropylmyristátové (IPM) suspenze nanočástic ZnO a nanokompozitního materiálu ZnO/vermikulit. Experimentální vzorky byly charakterizovány pomocí měrného specifického povrchu, distribuce velikosti částic, rentgenové difrakční analýzy, UV-VIS spektrofotometrie a dalších analytických metod. Výsledky testů stability ukázaly, že IPM suspenze s nanočásticemi ZnO jsou stabilní, ale suspenze obsahující VM byly nestabilní. V rámci výsledků testů toxicity bylo zjištěno snížení schopnosti nanočástic ZnO indukovat lipoperoxidaci po smíchání s VM či IPM. S rostoucí tendencí nanočástic ZnO aglomerovat došlo ke snížení toxicity.

Klíčová slova

nanočástice, oxid zinečnatý, oxid zinečnatý/vermikulit, isopropylmyristát, stabilita, toxicita

ABSTRACT

Diploma thesis deals with the stability of prepared suspensions and their ability to induce lipid peroxidation. The theoretical part summarizes general knowledge about zinc oxide (ZnO) nanoparticles, suspensions, emulsions and vermiculite (VM). In the experimental part were prepared isopropyl myristate (IPM) suspensions of ZnO nanoparticles and ZnO/vermiculite nanocomposite material. Experimental samples were characterized by specific surface area, particle size distribution, infrared spectrometry, X-ray diffraction analysis, UV-VIS spectrophotometry and other analytical methods. Stability test results showed that IPM suspensions of ZnO nanoparticle were stable, but suspensions containing vermiculite were unstable. Based on toxicity measurement, it was found out that adding vermiculite decreases the ability of the ZnO nanoparticles to cause lipoperoxidation. Toxicity of ZnO decreases with increase of agglomeration rate.

Keywords

nanoparticles, zinc oxide, zinc oxide/vermiculite, isopropyl myristate, stability, toxicity

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala Ing. Karle Čech Barabaszové, Ph.D. za její cenné rady a trpělivost při vedení mé diplomové práce. Děkuji za čas, který mi věnovala, připomínky, poskytnutou literaturu i náměty k vypracování řešené problematiky. Ing. Jiřímu Švrčkovi bych chtěla poděkovat za možnost spolupráce, poskytnutí experimentálních vzorků a vstřícnost. Rovněž bych chtěla poděkovat Mgr. Ing. Haně Rajhelové za pomoc při provádění testů toxicity a jejich vyhodnocení.

OBSAH

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

Úvod	1
1 Teoretická část	3
1.1 Nanočástice oxidu zinečnatého	3
1.1.1 <i>Nanočástice oxidu zinečnatého a ochrana proti UV záření.....</i>	<i>5</i>
1.1.2 <i>Komerční využití oxidu zinečnatého v opalovacích přípravcích.....</i>	<i>11</i>
1.1.3 <i>Bezpečnost použití nanočástic ZnO v opalovacích přípravcích.....</i>	<i>12</i>
1.1.4 <i>Stabilita oxidu zinečnatého</i>	<i>15</i>
1.2 Suspenze a emulze.....	16
1.2.1 <i>Metody přípravy suspenzí a emulzí</i>	<i>19</i>
1.2.2 <i>Oleje pro přípravu suspenzí a emulzí v kosmetickém průmyslu.....</i>	<i>22</i>
1.3 Vermikulit.....	29
2 Experimentální část.....	32
2.1 Příprava vzorků	32
2.1.1 <i>Příprava nanočástic ZnO a nanokompozitního materiálu ZnO/vermikulit.....</i>	<i>32</i>
2.1.2 <i>Příprava suspenzí na bázi isopropylmyristátu</i>	<i>33</i>
2.2 Charakterizace experimentálních vzorků	36
2.2.1 <i>Měření viskozity a pH.....</i>	<i>37</i>
2.2.2 <i>Skenovací elektronová mikroskopie</i>	<i>39</i>
2.2.3 <i>Měrný specifický povrch</i>	<i>41</i>
2.2.4 <i>Distribuce velikosti částic</i>	<i>42</i>
2.2.5 <i>Rentgenová fluorescenční spektroskopie</i>	<i>44</i>
2.2.6 <i>Infračervená spektrometrie s Furierovou transformací.....</i>	<i>47</i>
2.2.7 <i>Rentgenová difrakční analýza</i>	<i>53</i>
2.2.8 <i>UV-VIS spektrofotometrie</i>	<i>56</i>
2.3 Sledování stability v závislosti na čase a působení světlo/tma	58
2.4 Testy toxicity	62
3 Závěr	66
Literatura	68

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

A	absorbance
$A_{532,16}$ [-]	absorbance při vlnové délce 532,16 nm
BET	Brunauerova, Emmettova a Tellerova teorie
EIP	metoda inverzního bodu emulze
FTIR	infračervená spektrometrie s Furierovou transformací
HPH	vysokotlaká homogenizace
IPM	isopropylmyristát
nZ_BOCH01	komerčně připravené nanočástice oxidu zinečnatého
nZ_BOCH01_IPM	komerčně připravené nanočástice oxidu zinečnatého suspendované v isopropylmyristátu
nZ_BOCH03	komerčně připravené nanočástice oxidu zinečnatého
nZ_BOCH03_IPM	komerčně připravené nanočástice oxidu zinečnatého suspendované v isopropylmyristátu
N	negativní kontrola
P	pozitivní kontrola (TiO ₂)
PIT	metoda teplotní inverze fází
PPD	faktor hodnotící ochranu přípravku před UVA zářením
ROS	reaktivní formy kyslíku
RPM	otáčky za minutu
SE	režim sekundárních elektronů
SEM	skenovací elektronová mikroskopie
SP	použitý rotor pro dané měření
SPF	ochranný faktor
SSA [m ² /g]	měrný specifický povrch
UV	ultrafialové záření
UVA	dlouhovlnné záření s vlnovou délkou 400–320 nm
UVB	středněvlnné záření s vlnovou délkou 320–290 nm
UVC	krátkovlnné záření s vlnovou délkou 290–100 nm
U(ZnO(ac))	sonochemicky připravené nanočástice oxidu zinečnatého
U(ZnO(ac))_IPM	sonochemicky připravené nanočástice oxidu zinečnatého suspendované v isopropylmyristátu

U(ZnO(ac)/V)		sonochemicky připravený nanokompozitní materiál nanočástic oxidu zinečnatého a vermikulitu
U(ZnO(ac)/V)_IPM		sonochemicky připravený nanokompozitní materiál nanočástic oxidu zinečnatého a vermikulitu suspendované v isopropylmyristátu
VM		vermikulit
VM_IPM		vermikulit suspendovaný v isopropylmyristátu
ZnO-NČ		nanočástice oxidu zinečnatého
d	[nm]	vzdálenost mřížových rovin
d_m		střední velikost částic
d_{43}	[μm]	průměrná velikost částic vztažená na celkový objem
d_{10}	[μm]	průměrná velikost částic, kterých je 10 % v objemu
d_{50}	[μm]	průměrná střední velikost částic
d_{90}	[μm]	průměrná velikost částic, kterých je 90 % v objemu
δ	[%]	relativní odchylka
θ	[°]	difrakční úhel

Úvod

Důležitým předmětem zkoumání v oblasti vědy a výzkumu jsou nanočástice oxidu zinečnatého (ZnO) z důvodu velkých aplikačních možností. Nanočástice ZnO jsou využívány hlavně díky antibakteriálním účinkům a schopnosti absorbovat UV záření. Jeho antibakteriálních účinků se využívá nejen v kosmetických přípravcích, jako jsou antibakteriální krémy, gely na ruce, pudry, ale také v barvách, obalových materiálech potravin a dalších. Tato práce se soustředí na aplikační možnosti využívající schopnosti nanočástic ZnO absorbovat UV záření v opalovacích přípravcích s vysokým ochranným faktorem. Dlouho se nevědělo, jaké mohou mít nanočástice ZnO účinky na lidský organismus a ekosystém, ovšem v poslední době bylo provedeno rozsáhlé zkoumání této problematiky. Převážně je považováno použití nanočástic ZnO v opalovacích krémech za bezpečné, přesto je nutné neustále sledovat jejich toxicitu. Důležité je zabývat se otázkami co nejefektivnější absorpce UV záření, stability a toxicity nanočástic ZnO v kosmetických přípravcích.

Teoretická část obsahuje obecné informace o nanočásticích ZnO. Pozornost je věnována vlivu velikosti nanočástic ZnO na schopnost absorpce UV záření a bezpečnosti použití nanočástic ZnO v opalovacích přípravcích. Druhá polovina teoretické části je věnována vysvětlení pojmů suspenze a emulze. Popsané jsou vybrané metody přípravy suspenzí a emulzí. Jako nejvhodnější olej pro přípravu experimentálních suspenzí je zvolen synteticky připravený isopropylmyristát, proto se část teoretické práce zabývá jeho vlastnostmi a možnostmi syntézy. Uvedeny jsou také základní informace o vermikulitu, který je použit pro přípravu nanokompozitního materiálu ZnO/vermikulit za účelem snížení toxického účinku nanočástic ZnO.

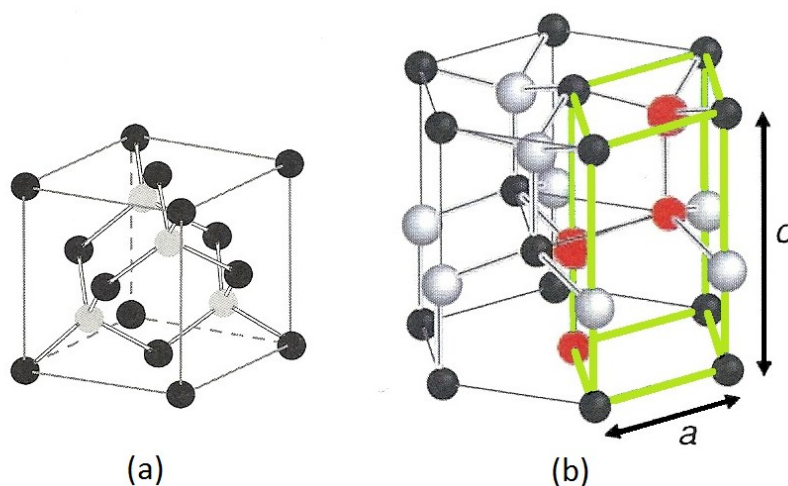
Cílem diplomové práce je analýza stability připravených suspenzí a jejich schopnost indukovat peroxidaci lipidů. U experimentálních vzorků jsou provedeny strukturní a fázové analýzy. Sledován je vliv velikosti částic na absorpční spektra nanoplniv a suspenzí. Hlavní část se zabývá sledováním velikosti částic a Zeta potenciálu suspenzí, kdy jsou hodnoceny změny v časové ose a vliv působení slunečního záření.

V testech toxicity je hodnocen vliv velikosti částic a aglomerace nanočástic na výslednou schopnost peroxidace lipidů. V práci jsou srovnávány připravené suspenze s nanoplňivy nanočástic ZnO, nanokompozitního materiálu ZnO/vermikulit a komerčně připravených nanočástic ZnO získaných ve spolupráci s Bochemie s.r.o.

1 Teoretická část

1.1 Nanočástice oxidu zinečnatého

Oxid zinečnatý (ZnO) je polovodičová sloučenina tvořená dvěma prvky, $_{30}\text{Zn}$ (II.B skupina) a $_{8}\text{O}$ (VI.A skupina). Elektronová konfigurace zinku má tvar $(1s)^2(2s)^2(2p)^6(3s)^2(3p)^6(3d)^{10}(4s)^2$ a kyslíku $(1s)^2(2s)^2(2p)^4$. Vzhledem ke konfiguraci zinku a kyslíku se u molekuly ZnO předpokládá hybridizace sp^3 , která odpovídá tetraedru (čtyřstěn). Uspořádání tetraedrů může vytvářet buď kubickou (při zvýšeném tlaku) nebo hexagonální (za normálního tlaku) strukturu (Obr. 1). Kvůli vysoké elektronegativitě kyslíku vykazuje vazba ZnO značnou polaritu. Vazba mezi kyslíkem a zinkem je iontově kovalentní [1].



Obr. 1: (a) Kubická struktura a (b) hexagonální struktura ZnO se zeleně vyznačenou primitivní buňkou [1].

Nano rozměry způsobují velký podíl povrchu k objemu částic, z čehož vyplývá zvýšená reaktivita a rozpustnost nanočástic ZnO v rozmanitých prostředích. Na povrchu nanočástic mohou být konjugovány ligandy a molekuly s využitím v doručování léčiv (nosiče léčiv) [2]. ZnO je v čisté vodě jen velmi málo rozpustný. Při teplotě 298 K je hodnota rozpustnosti přibližně v rozmezí 1,6–6,5 mg.l^{-1} . Rozpustnost ZnO závisí na teplotě, velikosti a tvaru nanočástic. Se zvyšující přítomností komplexotvorných iontů NH_4^+ , Cl^- , nebo SO_4^{2-} , se zvyšuje schopnost tvořit Zn^{2+} ionty. Naopak anionty

CO_3^{2-} nebo PO_4^{3-} způsobují srážení za vzniku méně rozpustných sloučenin (ZnCO_3 nebo $\text{Zn}_3(\text{PO}_4)_2$). Pro přesné stanovení rozpustnosti je nutné brát v úvahu komplexní chemickou rovnováhu roztoku. Doposud byl sledován exponenciální pokles rozpustnosti se zvyšujícím se poloměrem sférických nanočástic. Rychlost rozpouštění nanočástic ZnO ve vodných roztocích je nutné sledovat z hlediska potenciálně zvýšené možnosti toxicity oproti makročásticím ZnO. Na extrémně velkém povrchu nanočástic dochází k tvorbě volných radikálů a reaktivních forem kyslíku (ROS - reactive oxygen species) [3]. Zvýšení koncentrace iontů Zn^{2+} v extracelulárních a intracelulárních tekutinách souvisí se zvýšenou tvorbou volných radikálů. Tyto volné radikály poté iniciují oxidativní stres buněk. Dochází tak k degradaci buňky s následnou apoptózou (buněčná smrt), která vysvětluje antibakteriální účinky nanočástic ZnO. Nanočástice ZnO mají schopnost absorbovat UVA a UVB záření v závislosti na velikosti částic [2].

Nanočástice ZnO je možné připravit různými chemickými metodami za vzniku pevné, kapalné či plynné fáze. Jedná se o mechanochemické procesy, srážení v přítomnosti povrchově aktivní látky, sol-gel, solvotermální, hydrotermální, mikroemulzní [4] a sonochemické metody [5]. Chemické metody mají několik výhod, jsou ekonomicky efektivní, spolehlivé a poměrně ekologické. Poskytují syntézu nanočástic o řízené velikosti a tvaru s vysokým poměrem plochy povrchu k jejich objemu. Nevýhodou však může být tendence aglomerovat na částice o velikosti makro, proto je často nutná stabilizace pomocí povrchově aktivních látek, uchycení na polymerní molekuly nebo navázání některých organických molekul na povrch nanočástic [2].

Nové vlastnosti vyplývající z nano rozměrů jsou odpovědné za rozsáhlé aplikační možnosti nanočástic ZnO. V lékařství se jedná o využití v léčbě rakoviny, bio snímání, léčivech, transportu genu, biomateriálech pro tkáňové inženýrství a polymerech s tvarovou pamětí [6]. V průmyslu má hojné využití jako antibakteriální činidlo. Bakterie mají neustálou schopnost adaptace, proto existují druhy, které jsou odolné vůči doposud vyvinutým antibiotikům. Je tedy nutné hledat nové způsoby ochrany před bakteriemi. Konkrétně lze zmínit tzv. inteligentní obalové materiály potravin [7], povrchové úpravy stěn v nemocnicích a sterilizace chirurgických nástrojů [8]. Další

velkou aplikační oblastí je využití v kosmetickém průmyslu a to hlavně v opalovacích krémech. Velikosti částic ZnO užívaných v kosmetickém průmyslu se různí v závislosti na pomocných ingrediencích. Některé opalovací přípravky využívají i submikronové částice ZnO, ale v poslední době se stávají oblíbenější přípravky využívající nanočástice ZnO [9].

1.1.1 Nanočástice oxidu zinečnatého a ochrana proti UV záření

Vlnové délky slunečního záření lze rozdělit na ultrafialové záření (200–400 nm), viditelné světlo (400–760 nm) a infračervené záření (760 nm – 1 mm). Z hlediska škodlivosti nás převážně zajímá oblast ultrafialového záření, které lze rozdělit na dlouhovlnné UVA (400–320 nm), středněvlnné UVB (320–290 nm) a krátkovlnné UVC (290–100 nm). Většinu (95%) dopadajícího záření na zemský povrch tvoří UVA záření. UVB se z velké části absorbuje v ozónové vrstvě atmosféry. Naštěstí prokazatelně karcinogenní UVC se kompletně absorbuje v zemské atmosféře. Ozónová vrstva je schopna odfiltrovat podstatnou část dopadajícího UV záření, ale se vzrůstajícím počtem skleníkových plynů dochází ke ztenčování ozónové vrstvy. Snižuje se tak schopnost ozónové vrstvy absorbovat UV záření. UVA záření sice působí na kůži méně škodlivě než UVB záření, je ale schopné proniknout přes sklo i oblaka. V kumulativních či vysokých dávkách může UVA záření pronikat také hlouběji do kůže a může způsobovat erytém (červené zbarvení kůže způsobené rozšířením krevních cév a zvýšeným prokrvením), pigmentaci a aktinické (vzniklé zářením) stárnutí kůže. UVB proniká do pokožky v menší hloubce, kde umožňuje přeměnu vitamínu D na aktivní metabolit. UVB záření vyvolává erytém a stimuluje tvorbu melaninu [10].

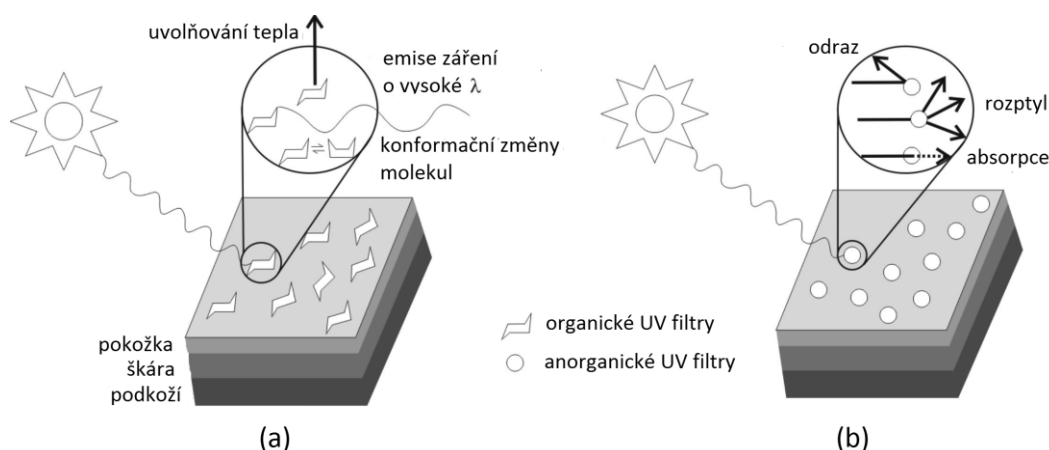
Mezi molekulární mechanismy vzniku melanomu, které jsou spuštěny UV zářením, patří přímé a nepřímé poškození DNA, buněčná apoptóza, transkripční změny, tvorba pyrimidinových dimerů nebo reaktivních druhů kyslíku (ROS) a zástava buněčného cyklu. Vzhledem k významu fotoprotekce a prevence kožních onemocnění je účinnost produktů chránících před slunečním zářením předmětem stále více studií. Kromě ochrany před slunečním zářením musí mít přípravky další vlastnosti, které rozhodují o přijatelnosti výrobku. Mezi ně patří snadná roztíratelnost, prodloužená retence

(zadržení) na kůži, průhlednost, nízká cena a atraktivní vzhled. Ne vždy je možné splnit všechny zmíněné požadavky, proto je oblast opalovacích přípravků přitahuje pozornost vědců a firem [11].

Vzhledem k účinkům UV záření je důležité vyvíjet přípravky, které chrání kůži před UVA i UVB zářením. Účinnost přípravku vyjadřuje ochranný faktor (SPF = sun protection factor). Hodnota SPF je výsledkem poměru minimální erytémové dávky na kůži ošetřené 2 mg/cm² opalovacího přípravku k minimální erytémové dávce na neošetřenou kůži. Nově je také stanovován faktor hodnotící ochranu opalovacího přípravku před UVA zářením (PPD = persistent pigment darkening). Stanovení hodnoty PPD je obdobné jako u SPF, jen se nesleduje erytém na kůži, ale míra ztmavnutí kůže [10].

Pro stanovení SPF jsou zavedeny dva typy metod a to metoda *in vivo* a *in vitro*. *In vivo* je metoda založená na sledování biologických změn vznikajících na kůži po jejím simulovaném ozáření. Testy probíhají na dobrovolnících s různými fototypy kůže. Metoda *in vitro* je založena na fyzikálních jevech. Test vyhodnocuje propustnost UV záření přes tenkou vrstvu opalovacího přípravku, který je aplikován na zdrsňelý substrát. Propustnost se sleduje před a po vystavení umělému záření. Propustnost se hodnotí pomocí UV spektrofotometru při vlnové délce od 290 nm do 400 nm. Hodnota SPF se následně určuje z matematického výpočtu [12, 13].

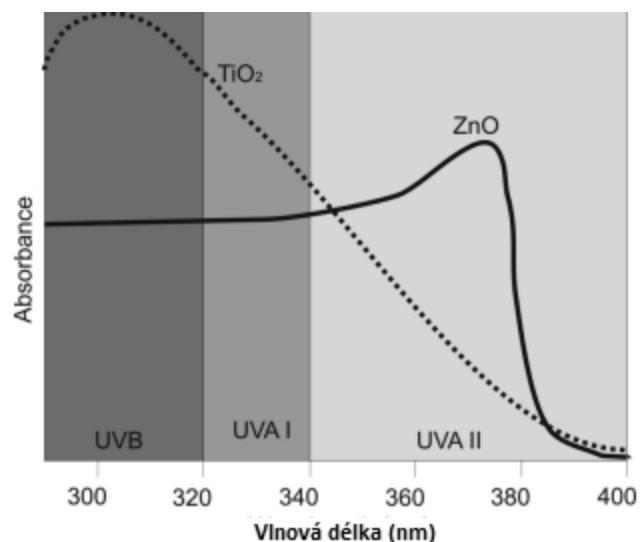
Podle mechanismu ochrany před UV zářením lze rozdělit opalovací přípravky na absorbéry (přípravky s organickými chemickými filtry) a blokátory (přípravky s anorganickými fyzikálními filtry – např. ZnO) [10]. Obr. 2 znázorňuje způsoby působení organických a anorganických UV filtrů a jejich hlavní rozdíly [11].



Obr. 2: Znázornění základního rozdílu mezi (a) organickými (chemickými) a (b) anorganickými (fyzikálními) filtry [11].

Absorbéry nazýváme také chemické filtry, jelikož jejich princip působení souvisí s chemickými změnami molekul, které zabráňují proniknutí UV záření do kůže. Mezi chemické filtry patří aromatické sloučeniny s karbonylovou skupinou. Při pohlcení UV fotonů může docházet ke konformačním změnám molekuly, emitování záření o větší vlnové délce, nebo přeměně dopadající energie na teplo. Změny molekul jsou vratné, proto mohou opakovaně chránit před slunečním zářením. Jako konkrétní příklady chemických filtrů lze zmínit salicyláty, benzofenony, antraniláty, dibenzoylmethany a p-aminobenzoáty [11].



































Blokátory (anorganické/fyzikální UV filtry) mohou být například oxid zinečnatý, oxid titaničitý, oxid železitý, kaolín, ichthammol, červená vazelína, mastek, calamine, nanočástice na bázi fosfátů a uhličitánů či hydroxyapatit. Z těchto možných blokátorů jsou schváleny pouze oxid zinečnatý a oxid titaničitý. Oxid titaničitý lze, vzhledem k jeho absorpčnímu spektru, používat samostatně v opalovacích přípravcích, ovšem se sníženou schopností ochrany proti UVA záření. Zatímco oxid zinečnatý má dobré absorpční vlastnosti v oblasti UVA záření, ale nepokrývá dostatečně oblast UVB záření. Vzhledem k této skutečnosti je možné se setkat s opalovacími prostředky kombinující oxid zinečnatý a oxid titaničitý [11]. Obr. 3 uvádí srovnání absorpčních spekter oxidu titaničitého a oxidu zinečnatého.



Obr. 3: Porovnání závislosti absorbance na vlnové délce oxidu titaničitého a oxidu zinečnatého [11].

Anorganické i organické UV filtry jsou schopny chránit pokožku před UVA a UVB zářením. Přesto ne všechny organické UV filtry poskytují kompletní ochranu, mnoho z nich absorbuje pouze UVB záření. Anorganické nabízejí některé vysoce ceněné výhody, mezi něž patří široko spektrální ochrana a fotostabilita. Nevýhodou některých organických UV filtrů (např. avobenzen) je špatná fotostabilita a možnost vyvolat mírnou alergenní reakci. Vzhledem k alergenním reakcím jsou anorganické filtry považovány za vhodnější pro děti. Další nevýhodou organických UV filtrů je uvolnění volných radikálů a následné poškození kolagenu, elastinu nebo DNA kožních buněk [11]. Většina opalovacích přípravků kombinuje více druhů filtrů [10]. Tabulka 1 shrnuje nejčastěji používané organické a anorganické UV filtry. Pro představu je rovněž uveden jejich stupeň ochrany proti UVA a UVB záření.

Tabulka 1: Názorné srovnání účinnosti různých druhů používaných filtrů v opalovacích přípravcích [14].

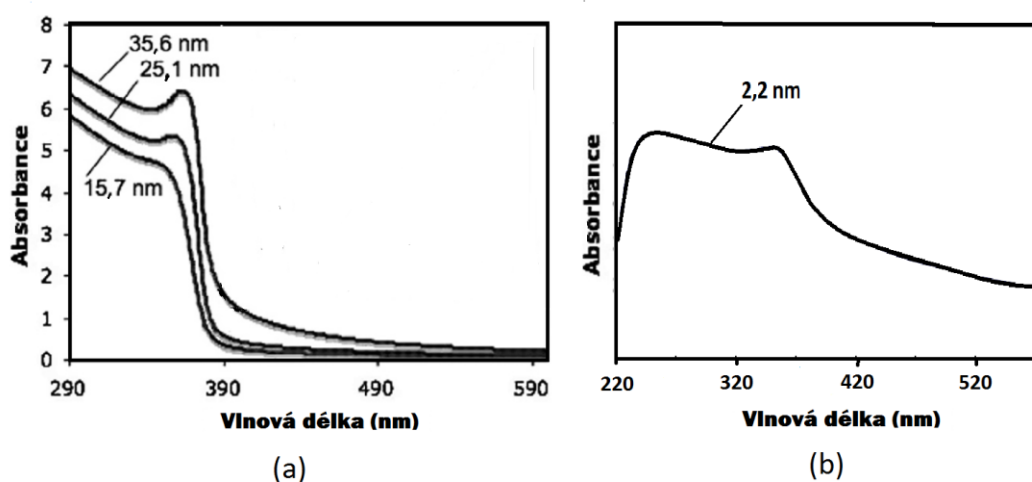
Opalovací přísada	Míra ochrany proti záření		Chemický (C) / fyzikální (F) filtr
	UVA	UVB	
Aminobenzoová kyselina			C
Avobenzon			C
Cinoxát			C
Dioxybenzon			C
Ecamsule			C
Homosalát			C
Methyl anthranilát			C
Octocrylene			C
Oktylmethoxycinnamát			C
Oktylsalicylát			C
Oxybenzon			C
Padimate			C
Fenylbenzimidazol			C
Sulisobenzon			C
Oxid titaničitý			F
Salicylát trolaminu			C
Oxid zinečnatý			F

Stupeň ochrany: ● = velký, ◐ = značný, ◑ = omezený, ○ = minimální

Oxid zinečnatý se používá zejména v nanoformě z mnoha důvodů. Nano rozměr zvyšuje jejich ochranou kapacitu. Platí, čím menší částice, tím vyšší je homogenita vrstvy na pokožce (lepší pokrytí pokožky). Velikost částic 35 nm je ideální pro absorpci, rozptyl a odražení ultrafialového záření s krátkou vlnovou délkou, zatímco při působením viditelného světla s delší vlnovou délkou jsou v podstatě neviditelné. Přípravek se jeví po rozetření jako průhledný a nezanechává kůži bílou. Optimální velikostí částic s dobrou průhledností je mezi 40 nm a 60 nm [9].

Pro všechny nanočástice platí, že rozsah velikostí může významně změnit fyzikálně-chemické vlastnosti. Velikost může také výrazně ovlivnit schopnost fyzikálních a chemických interakcí s biologickými tkáněmi [9]. Je známo, že částice větší než 70

nm již nevykazují úplnou průhlednost. Vliv velikosti částic na UV absorpci nanočástic oxidu zinečnatého byl zkoumán v rozmezí velikostí 15–40 nm. Bylo dokázáno, že absorpce UV záření je závislá na velikosti částic. Obr. 4 (a) ukazuje absorbanci monochromatického světla nanočástic oxidu zinečnatého pro tři různé velikosti (15,7 nm, 25,1 nm a 35,6 nm) v rozmezí vlnových délek 290–590 nm. Pro oxid zinečnatý je typický nárůst absorpce při vlnových délkách pod 380 nm. S klesající velikostí částic dochází jak k poklesu intenzity absorpce, tak k posunu absorpce k nižším vlnovým délkám. Se snižující se velikostí částic také dochází k vymizení širokého píku v oblasti vlnových délek 360–370 nm. Sníží se tak i celková absorpce [15]. Nízká absorpce v oblasti 390 nm potvrzuje skutečnost, že velikost částic mezi 15–50 nm se zdají být průhledné ve viditelné oblasti světla, neboť neabsorbují v této oblasti slunečního záření [11].



Obr. 4: UV-VIS absorpční spektra (a) tří různých velikostí nanočástic ZnO (15,7 nm, 25,1 nm, 35,6 nm) [15] a (b) nanočástic ZnO o přibližné velikosti částic 2,2 nm [16].

Dále bylo sledováno i absorpční spektrum nanočástic ZnO syntetizovaných metodou srážení z dusičnanu zinečnatého. Syntetizované nanočástice ZnO mají hexagonální strukturu a velikost částic přibližně 2,2 nm s výraznější absorbancí v oblasti 240–360 nm (Obr. 4 (b)). Lze sledovat rozšíření absorpčního rozsahu oproti větším nanočásticím na Obr. 4 (a). Tato metoda přípravy má potenciál pro aplikaci ve velkovýrobních podmínkách [16].

1.1.2 Komerční využití oxidu zinečnatého v opalovacích přípravcích

Oxid zinečnatý je hojně využíván v kosmetickém průmyslu. Velký potenciál má v opalovacích přípravcích. V následující podkapitole jsou specifikované komerčně dostupné opalovací krémy, které jsou tvořeny částicemi oxidu zinečnatého. Účinné látky a vybrané pomocné složky přítomné v opalovacích krémech jsou uvedeny v tabulce 2. Lze si povšimnout, že se často ve složení nachází isopropylmyristát.

Tabulka 2: Složení vybraných opalovacích krémů, které obsahují oxid zinečnatý.

Opalovací krém	Účinné látky	Vybrané pomocné složky
Avène SPF 50+ [17]	oxid zinečnatý (6%), oxid titaničitý (4%)	voda, ...
Zinka Clear SPF 30 [18]	octinoxát (5,0%), oxid zinečnatý (4,3%), octisalate (3,0%), oxybenzon (2,5%)	voda, isopropylmyristát , extrakt z listů aloe, hydrogenovaný ricinový olej, ...
Beauty Counter Countersun SPF30 [19]	oxid zinečnatý (19 g ve 100 ml)	voda, hydrogenovaný ricinový olej, isopropylmyristát , pepermintový olej, ...
Bare Republic SPF30 [20]	oxid titaničitý (3,2%), oxid zinečnatý (1,7%)	alkohol, isopropylmyristát , olej ze semen baobabu afrického, extrakt z řas, slunečnicový olej, slída, ...

V Česku je poměrně známou kosmetickou značkou Avène s řadou minerálních opalovacích krémů SPF 50+. Tento krém poskytuje širokospektrální ochranu proti UVA/UVB záření, je silným antioxidantem, který brání poškození volnými radikály. Poskytuje maximální odolnost proti vodě (po dobu až 80 minut pobytu ve vodě) a dlouhodobou hydrataci. Použití je vhodné pro všechny typy pleti i pro jedince s velice citlivou kůží ve věku od šesti let dítěte. Výrobek je hypoalergenní, nekomedogenní, bez parfémů, mýdla, parabenů a přidaných olejů [17].

Jedním z příkladů opalovacího přípravku využívající oxid zinečnatý (není uvedena velikost částic) je opalovací krém Zinka Clear SPF 30, který chrání pokožku proti UVA a UVB záření. Tento výrobek se chlubí absencí parabenů, odolností proti vodě, bezolejovým složením s Aloe Vera a vitamíny A a E. Měl by být také vhodný pro děti [18]. Dále je uveden minerální opalovací přípravek Beauty Counter Countersun SPF30,

který umožňuje ochranu před spálením kůže, pokud se používá podle pokynů, snižuje riziko vzniku rakoviny kůže a předčasného stárnutí pokožky způsobené sluncem. Výrobek má specifické pokyny pro užívání, nesmí se používat na poškozenou kůži nebo objeví-li se vyrážka. Je doporučeno obnovit vrstvu opalovacího přípravku po dvou hodinách slunění a po pobytu ve vodě delším než 40 minut. Přípravek není doporučen dětem do 6 měsíců. Samotný výrobek je nutné chránit před přímým slunečním zářením [19]. Minerální krém Bare Republic SPF30 obsahuje oxid zinečnatý a oxid titaničitý pro širokospektrální ochranu proti UVA/UVB záření. Obsažené oleje působí antioxidačně a rostlinné extrakty nabízí intenzivní hydrataci. Jednou z výhod je odolnost proti vodě po dobu 40 minut [20].

1.1.3 Bezpečnost použití nanočástic ZnO v opalovacích přípravcích

Nanotechnologie se staly populárními pro opalovací přípravky založené na fyzikálních principech. Ty používají běžně složky oxid zinečnatý a oxid titaničitý [21]. Navržené opalovací přípravky s nanočásticemi ZnO jsou průhledné, poskytují vysokou ochranu proti UV záření a jsou vizuálně přijatelnější [22]. Nano velikosti mají jednu zásadní otázku, která se týká toxicity. Hlavním problémem je výroba reaktivních kyslíkových forem, zahrnující volné radikály, které vedou k oxidativnímu stresu, poškození proteinů, membrán a DNA [9].

Opakovaná dlouhodobá expozice ultrafialové radiace způsobuje stárnutí pokožky a zvýšené riziko rakoviny kůže [23, 24]. Oxid zinečnatý se hojně používá v širokospektrálních opalovacích krémech, přestože neexistují žádné přímé důkazy o tom, že nanočástice ZnO jsou účinné v prevenci proti rakovině. V opalovacích prostředcích se běžně kombinují s chemickými absorbéry UV záření. Přes vysokou účinnost, však některé skupiny lidí zpochybňují bezpečnost opalovacích přípravků na bázi nanočástic. Národní průzkum provedený v Austrálii v roce 2017 zjistil, že pouze 55 % lidí považují za bezpečné používat opalovací krémy každý den. V roce 2014 to bylo ještě 64 % [25]. Je tedy nutné zabývat se problematikou, zda by mohlo použití opalovacích přípravků s nanočásticemi ZnO zvýšit výskyt rakoviny kůže nebo jinak nepříznivě působit na lidský organismus.

Klíčový problém souvisí s otázkami bezpečnosti nanočástic ZnO (ZnO-NČ) a možnostmi jejich proniknutí do *stratum corneum* (rohová vrstva na povrchu kůže). Většina vědeckých prací týkajících se toxicity ZnO-NČ jsou založeny na studiích buněčné kultury, které ukazují, že ZnO-NČ mohou indukovat cytotoxicitu, oxidační stres a poškození DNA. Existují tvrzení, že po méně než šesti hodinách aplikace ZnO-NČ dochází k metabolickému poškození jaterních buněk, epidermálních buněk, keratinocytů a fibroblastů [22]. Opakovanou topickou aplikaci opalovacího krému s ZnO-NČ na lidských dobrovolnících řeší studie [26]. Ta ukázala, že v lidské krvi a moči byly nalezeny zinečnaté ionty, ale nebyla dokázána přímá penetrace ZnO-NČ do těla jedinců [26].

Doposud provedené studie aplikace ZnO na konkrétní místo pokožky se však vyjadřují převážně o bezpečnosti používání nano forem ZnO. U nanočástic se nepředpokládá schopnost proniknout kůží ve významných množstvích [11]. V současné době není mnoho studií, jež sledují opakovanou aplikaci na člověku *in vivo*. Výzkum je převážně soustředěn na jednorázovou aplikaci na zdravých dobrovolnících, či *in vitro* studie s vyříznutým vzorkem lidské kůže, kdy se hovoří většinou o velmi nízké až žádné penetraci přes epidermis do organismu [27]. To se ovšem nedá považovat za studii reprezentující skutečné spotřebitelské použití.

Studie penetrace aglomerovaných nanočástic oxidu zinečnatého (ZnO) [28] se týká bezpečnosti opakované aplikace na lidské dobrovolníky po dobu pěti dnů. Aby byl lépe prozkoumán osud ZnO-NČ na povrchu kůže, byl také studován vliv na vyříznutý vzorek lidské kůže za použití citlivé sondy, která detekovala ionty zinku v kůži. Pro studii byly použity dva typy nanočástic ZnO. Čisté nanočástice ZnO o průměrné velikosti 65 nm a nanočástice ZnO potažené triethoxycaprylylsilanem o průměrné velikosti částic 74 nm. Triethoxycaprylylsilan je hydrofobní povlak na bázi silikonových derivátů. Tyto nanočástice se běžně používají v komerčních opalovacích přípravcích. Pro aplikaci na kůži byly nanočástice ZnO dispergovány v caprylic/capric triglyceride. Pro testování bylo použito pět zdravých dobrovolníků (ve věku 20–30 let) s nepoškozenou kůží a bez aktivního kožního onemocnění. Dobrovolníci měli zakázáno použít opalovací nebo kosmetické přípravky po dobu 24 hodin před experimentem.

Vzorky byly aplikovány v dávce 2 mg/cm^2 na 4 cm^2 plochy na předloktí každého dobrovolníka opakovaně během dvou časových úseků (každou hodinu po dobu 6 hodin a jednu aplikaci denně po dobu pěti dnů. Aplikace byla stále na stejném místě jen na opačné ruce [28].

Při opakované *in vivo* aplikaci nepotažených a potažených nanočástic ZnO (ZnO-NČ) na lidskou pokožku, nebyly pozorovány žádné morfologické změny v keratinocytech pokožky spojené s buněčnou toxicitou nebo apoptózou (tj. smržštění buněk, blednutí). ZnO-NČ byly lokalizovány převážně na povrchu *stratum corneum* a v kožních záhybech v koncentracích srovnatelných s podanou dávkou. Hodinová nebo denně opakovaná lokální expozice ZnO-NČ nevedla k významnému zvýšení penetrace ZnO-NČ do životaschopné epidermis. Opakovaná denní dávka ZnO-NČ vede k mírnému zvýšení koncentrace zinku v kůži. Zvýšení výskytu nestabilního zinku v životaschopné *epidermis* je pravděpodobně způsobeno pronikáním iontů zinku uvolněných z ZnO-NČ nahromaděných na *stratum corneum* a v kožních záhybech. Přeměna ZnO-NČ na Zn^{2+} probíhá hydrolýzou při normálně kyselém pH pokožky. Výsledné ionty zinku se z životaschopné epidermis redistribuují do tělních systémů a vedou k zvýšení koncentrace iontů zinku v těle [28]. To vysvětluje výskyt iontů zinku v krvi a moči lidských dobrovolníků ve studii [26]. Toxické účinky, které mohou být vyvolány na izolovaných buňkách po expozici ZnO-NČ formou *in vitro*, se nevyskytují, jsou-li aplikovány na kůži lidí za realistických podmínek použití. Je důležité zmínit, že potenciální zvýšení rizika rakoviny kůže je v důsledku snížení používání opalovacích krémů mnohem větší než by pravděpodobně mohlo být vlivem toxicity nanočástic. Opakovaná aplikace opalovacích krémů s ZnO-NČ na kůži, je bezpečná a bez zřejmého důkazu o penetraci ZnO-NČ do epidermis či toxického efektu. Ani zinečnaté ionty nevykazují vyvolání lokální toxicity a pronikání přes pokožku [28].

Oxid zinečnatý se přemění na zinečnaté ionty dříve, než se dostanou do krevního řečiště, takže nenastává nutnost postarat se o nanočástice imunitním systémem. Nanočástice ZnO se do pokožky dostávají porušené. To se ovšem zatím nedá zcela říct o nanočásticích oxidu titaničitého, neboť disociují pomaleji než ionty oxidu zinečnatého. Nanočástice oxidu zinečnatého se při aplikaci na kůži rozkládají na ionty

a je tedy nepravděpodobné, že oxid zinečnatý v opalovacích krémech vstupuje do krevního řečiště [28]. Jedná se o první přímý důkaz, že nanočástice v opalovacích krémech nemohou proniknout do kůže [21].

Heather Walker, předsedkyně výboru pro rakovinu kůže uvedla, že opalovací přípravky s nanočásticemi oxidu zinečnatého zabraňují rakovině kůže, vzniku melanomu a jsou bezpečné. Dermatolog Shumack doporučuje používání opalovacích přípravků. Důležité je přitom zohlednit, jaký typ pleti člověk má a jaký by tedy měl podle toho vybrat opalovací přípravek [21].

1.1.4 Stabilita oxidu zinečnatého

Sledování pH je velmi důležité při použití oxidu zinečnatého v opalovacím přípravku. Při pH nižším než 7 dvojmocné ionty zinku migrují do vodní fáze a způsobují tak nestabilitu systému, protože Zn^{2+} může interagovat s různými polymery a emulgátory (např. soli kyseliny stearové). Mnoho polymerů odvozených od akrylátu jsou citlivé na Zn^{2+} . Zinečnaté ionty vytváří komplexy vedoucí k narušení polymerní matrice a ztrátě stability. Tyto reakce jsou výraznější u nepovlakovaných částic oxidu zinečnatého. Bylo zjištěno, že chelatační činidla (např. Na_2EDTA) a některé soli (např. $NaCl$) ve vodné fázi mohou pomoci snížit rozsah těchto interakcí. Kvůli zamezení růstu pH se doporučují použít pufrovací činidla, jako jsou kyselina citronová nebo kyselina mléčná. Nejlepší volbou při vývoji anorganických přípravků na opalování jsou neionizující emulgátory a zahušťovadla. Nejčastěji se používá xantamová guma, různé typy jílových minerálů, hydroxyethylcelulóza, hydroxypropylmethylcelulóza a polyurethan. Povrchová úprava oxidu zinečnatého triethoxycaprylsilanem a dimethoxydipheylsilanem způsobí hydrofobnost jeho povrchu. Tento povlak umožní dobré rozptýlení Zn^{2+} uvnitř olejové kapky a zabrání uvolňování iontů do vodné fáze [29].

Oxid zinečnatý lze snadno zabudovat do emulzí vody v oleji (V/O) nebo oleje ve vodě (O/V). Obvykle emulze typu V/O poskytují vyšší účinnost proti UV záření díky konzistentnějšímu filmu na pokožce, nicméně emulze typu O/V mohou být podobně efektivní ovšem s lepším výsledným pocitem spotřebitele z použití přípravku. Při práci

s ionizujícími emulgátory speciálně u O/V emulzí může docházet ke změně pH, které může změnit stabilitu přípravku. Je tedy vhodnější využití neionizujících emulgátorů, jako jsou stearáty, glykosidy, oleáty, atd. [29].

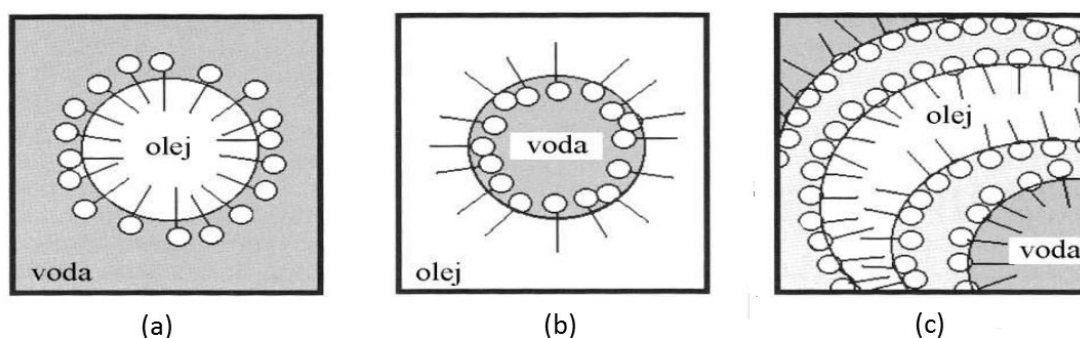
Klíčem k optimalizaci účinnosti UV a uplatnění konečného produktu je vlhkost a schopnost disperze částic oxidu zinečnatého v olejové fázi před emulgací. Jedná se o významný krok v procesu výroby, protože rozkládá velké aglomeráty. Přestože použití polárních změkčovadel není u oxidu zinečnatého nezbytné, mohou ovlivnit roztíratelnost a mohou také pomoci při rozpouštění organických UV filtrů, které jsou náchylné ke krystalizaci. Polarita změkčovadel ovlivňuje disperzi nepotažených částic ZnO. Čím je polárnější změkčovadlo, tím je lepší disperze. Vliv na disperzi má i molekulová hmotnost a struktura změkčovadla [29].

1.2 Suspenze a emulze

Suspenze je směs složená z disperzního prostředí (kontinuální fáze) tvořené převážně kapalinou (voda, olej, atd.) a dispergované fáze, jež má charakter pevných (práškových) částic. Pro kosmetické účely je důležitá dobrá snášenlivost disperzního prostředí kůží. Dispergované částice by neměly při delším skladování sedimentovat, a proto jsou preferovány suspenze s částicemi o velikosti 0,1–100 μm . Případnou sedimentaci lze ovlivnit přidáním povrchově aktivních látek (dispergátoru) či zahušťovadla. Často používanými zahušťovadly jsou hydrokoloidy, které zvyšují viskozitu disperzního prostředí a při nanesení na pokožku většinou vytváří souvislou vrstvu [30]. Nanosuspenze je submikronová koloidní disperze částic, která je stabilizovaná povrchově aktivními látkami, polymery nebo směsí obou látek. Velikost suspendovaných částic je menší než 1 μm [31].

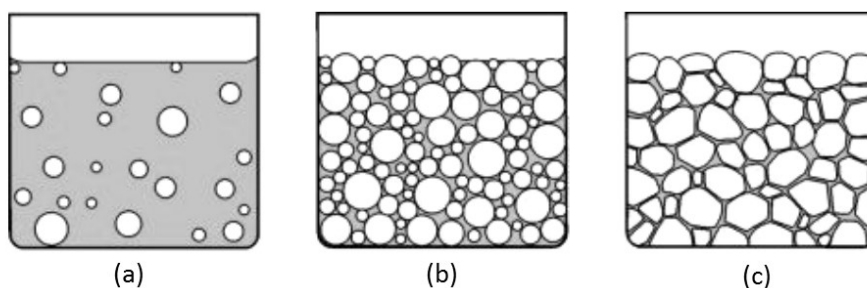
Emulze je heterogenní disperzní soustava. Jedná se o systém nejméně dvou vzájemně nemísitelných kapalin s různou hustotou a polaritou, v nichž jedna tvoří disperzní fázi v podobě drobných částic (kapek) a druhá disperzní prostředí. Pro praktické využití je potřebná přítomnost emulgátorů, které umožňují snadnou přípravu emulzí. Velikost kapek disperzní fáze závisí na stupni homogenizace a povaze jednotlivých kapalin. Aby se dala směs považovat za emulzi, musí být složky navzájem

nemísitelné nebo jen omezeně mísitelné. Emulze bývají zakalené v závislosti na velikosti rozdílu indexů lomu složek, čím větší rozdíl tím jsou více zakalené. Mají-li látky stejný index lomu, emulze je čirá. Zákal ovlivňuje také koncentrace složek a úroveň rozptýlení dispergované fáze v disperzním prostředí. Emulze se klasifikují obvykle podle velikosti rozptýlených částic, polaritý disperzního prostředí a koncentrace disperzní fáze. Podle polaritý disperzní fáze a prostředí se emulze dále dělí na přímé (tzv. prvního druhu) a obrácené (tzv. druhého druhu). U přímých emulzí (Obr. 5 (a)) je disperzním prostředím polárnější kapalina a jsou označovány jako O/V (olej ve vodě). Obrácené emulze (Obr. 5 (b)) mají jako disperzní prostředí nepolární kapalinu a jsou označovány jako V/O (voda v oleji). Příkladem přímé emulze může být mléko a obrácené emulze máslo. Podle polaritý můžeme připravit také tzv. složené typy emulzí (Obr. 5 (c)). Například emulze V/O/V je tvořena dispergovanými částicemi vody ve větších částicích oleje, které jsou dispergovány v kontinuální vodné fázi [30].



Obr. 5: (a) přímá emulze, (b) obrácená emulze a (c) složená emulze [30].

Podle koncentrace disperzní fáze se emulze dělí na zředěné (max. 2 objemových %, průměr kapiček je řádově 10^{-7} m), koncentrované (až 74 objemových %) a vysoce koncentrované (Obr. 6). U vysoce koncentrovaných (gelových) emulzí jsou kapky disperzního podílu uloženy tak blízko, že se vzájemně deformují a nabývají tvarů mnohostěnů [30].



Obr. 6: (a) zředěná, (b) koncentrovaná a (c) vysoce koncentrovaná emulze [30].

Podle velikosti rozptýlených částic lze emulze rozdělit (Tabulka 3) na makroemulze (velikost částic > 100 nm, termodynamicky nestabilní), mikroemulze (velikost částic 10–100 nm, termodynamicky stabilní) a nanoemulze (velikost částic 20–500 nm, termodynamicky nestabilní) [32].

Tabulka 3: Rozdělení emulzí podle velikosti rozprýlených částic [32].

	Makroemulze	Nanoemulze	Mikroemulze
Velikost částic	1–100 μm	20–500 nm	10–100 nm
Tvar	kulovitý	kulovitý	kulovitý, destičkovitý
Termodynamická stabilita	nestabilní	nestabilní	stabilní
Kinetická stabilita	mírně stabilní	stabilní	-
Metoda přípravy	vysoko a nízko energetické	vysoko a nízko energetické	nízko energetické

Vznik emulze je závislý na množství použité aktivní látky, její koncentraci a teplotě. Interakce mezi složkami a povrchově aktivní látkou mohou být odpudivé či přitažlivé, v závislosti na typu povrchově aktivní látky [33].

Význam nanoemulzí roste hlavně v oblasti kosmetiky a zdravotnictví. V případě kosmetických přípravků vodných emulzí, dochází při nanesení přípravku na kůži k uvolnění vodné fáze a jejímu odpaření. Na pokožce tak zůstává jen jemný homogenní film složený z tukových látek určitého složení a vlastností [30]. V případě kosmetických přípravků jsou součástí základních emulzí tzv. aktivní látky, které dokáží chránit pokožku před nežádoucím a škodlivým slunečním zářením. Na pokožce se tak vytvoří

jemný film s ochrannou funkcí proti určitým vlnovým délkám spektra slunečního záření.

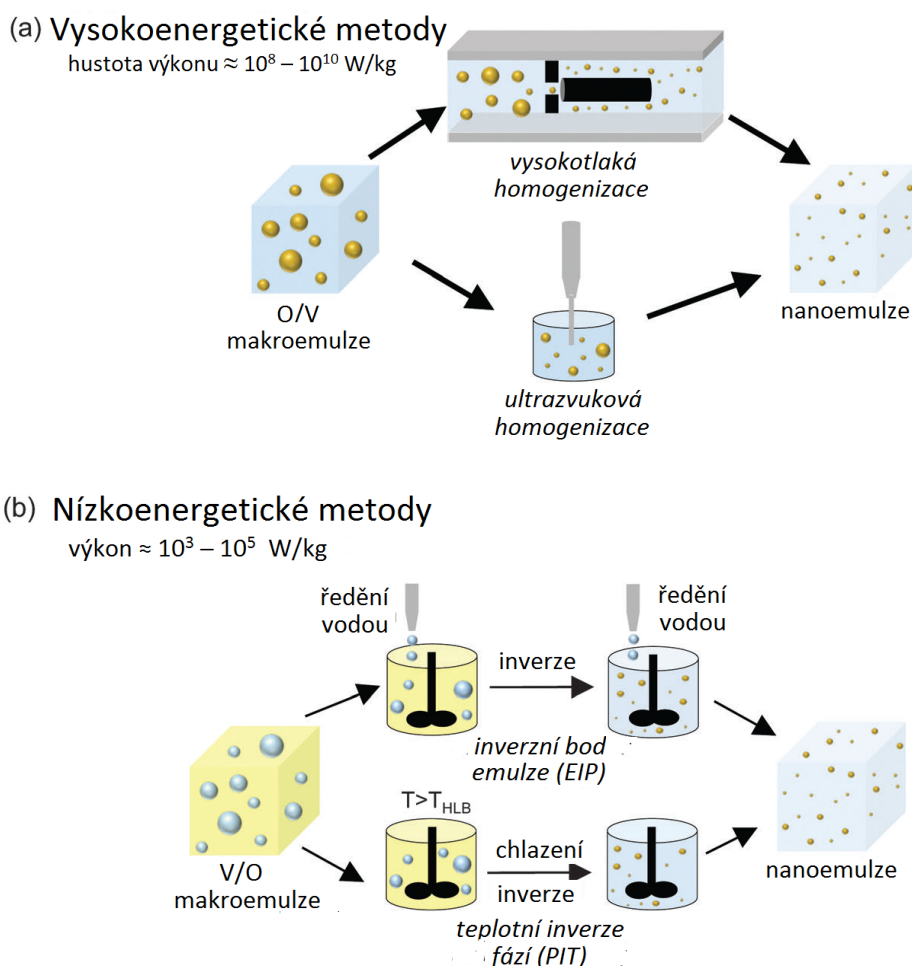
1.2.1 Metody přípravy suspenzí a emulzí

Existují dva hlavní přístupy přípravy nanosuspenzí, bottom up (zdola nahoru) a top-down (shora dolů) technologie. Metoda top-down používá technologie zmenšování částic, mezi které patří vysokotlaká homogenizace a mlecí techniky. Metoda zdola nahoru je způsob sestavení nanočástic z molekul. Příkladem bottom-up přístupu jsou solvent a antisolvent metoda, superkritický fluidní proces, emulgační technika odpařování rozpouštědel a šablonová technika [34].

U vysokotlaké techniky se práškové plnivo disperguje ve stabilizačním roztoku, čímž se vytvoří předsuspenze, která se dále homogenizuje ve vysokotlakém homogenizátoru při nízkém tlaku. Na konec následuje homogenizace při vysokém tlaku, dokud se nevytvoří nanosuspenze požadované velikosti. Tato metoda je založená na principu kavitace. Disperze přítomná ve válci (o průměru 3 cm) se nechá protéct úzkou mezerou (25 μm). Pro zachování průtoku kapaliny v uzavřeném systému dojde k zvýšení dynamického tlaku a snížení statického tlaku. Změna tlaku vyvolá snížení bodu varu kapaliny. Varem kapaliny vznikají plynové bublinky, které implodují v momentu, kdy kapalina znovu nabyde tlak vzduchu. Kavitační síly jsou dostatečně vysoké pro přeměnu na nanosuspenzi. Mezi vhodné metody přípravy nanosuspenzí patří vysokorychlostní mlecí techniky. Nanoplňivo, kapalina a stabilizátor jsou společně mlety při vysokých rychlostech a řízené teplotě někdy i několik dní. Špatně rozpustné nanoplňivo je vhodné připravit metodou precipitace (srážení). Nanoplňivo se nejprve rozpustí v rozpouštědle a pak se roztok smísí s antisolventem v přítomnosti povrchově aktivních látek [34].

Příprava nanoemulzí je obdobná jako u nanosuspenzí. Je nutné brát v úvahu mísitelnost a rozpustnost jednotlivých složek. Nanoemulze jsou většinou připraveny ve dvou krocích. Nejprve je připravena makroemulze a v druhém kroku je přeměněna na nanoemulzi. Primárně existují dva možné přístupy přípravy nanoemulzí, vysokoenergetické (potřebná energie je v řádech 10^8 – 10^{10} W/kg) a nízkoenergetické

metody (potřebná energie je v řádech 10^3 – 10^5 W/kg). Nízké energie lze snadno dosáhnout míchadlem. Mezi vysokoenergetické metody (Obr. 7 (a)) spadá vysokotlaká homogenizace (HPH) a ultrazvuková sonifikace. Mezi dvě nejčastěji využívané nízkotlaké (Obr. 7 (b)) patří metoda inverzního bodu emulze (EIP) a metoda teplotní inverze fází (PIT) [32].



Obr. 7: (a) vysokoenergetické metody a (b) nízkoenergetické metody přípravy nanoemulzí [32].

V prvním kroku přípravy nanoemulze O/V vysokoenergetickou metodou je zapotřebí vytvořit makroemulzi, která se obvykle provádí smícháním oleje, vody a povrchově aktivního činidla po dostatečně dlouhou dobu. V druhém kroku se přemění makroemulze na nanoemulzi. V homogenizátoru tlačí vysokotlaké čerpadlo makroemulzi přes úzkou mezeru (výška mezery je v řádech několika mikronů), kde se

velké kapky rozpadají na menší kapky vlivem vystavení extrémnímu prodloužení a smykovému napětí. Proces homogenizace (počet průchodů) se obvykle opakuje několikrát, dokud se velikost kapek neustálí na konstantní velikosti. Při použití ultrazvuku dochází k vytvoření vysokoenergetických rázových vln v důsledku kavitace a ty roztrhávají kapičky. Ultrazvukem se působí, dokud se velikost kapiček neustálí na konstantní hodnotě [32].

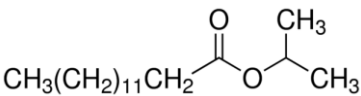
Na rozdíl od vysokoenergetických metod začínají nízkoenergetické metody od makroemulze O/V, která se pak transformuje na nanoemulzi O/V po změně složení či teploty. U EIP se připraví makroemulze V/O při teplotě místnosti a pak se pomalu zředí vodou. Během tohoto procesu ředění prochází systém inverzním bodem, ve kterém dochází k transformaci z emulze V/O na emulzi V/V. V inverzním bodě je velmi malé mezifázové napětí rozhraní olej-voda a malé kapky tak mohou být snadno vytvořeny. Na druhou stranu u PIT je V/O makroemulze připravena při vyšší teplotě, než je teplota fázové inverze směsi. Jakmile se směs olej-voda-povrchově aktivní látka ochladí na pokojovou teplotu, dojde při přechodu inverzní teplotou k přeměně směsi emulze z V/O na O/V. Mezifázové napětí rozhraní O/V je v blízkosti bodu inverze velmi malé, proto mohou být kapičky s vysokým specifickým povrchem vytvořeny s nízkou spotřebou energie. Jako další možné způsoby přípravy nanoemulzí lze zmínit metodu prasknutí bublin na rozhraní O/V, dozrávání odpařováním kapaliny a mikrofluidizace [32].

1.2.2 Oleje pro přípravu suspenzí a emulzí v kosmetickém průmyslu

Isopropylmyristát

Isopropylmyristát ($C_{17}H_{34}O_2$) je ester kyseliny myristové, přirozeně se vyskytující mastná kyselina v rostlinách a zvířatech, a isopropyl alkoholu [35]. Při pokojové teplotě je bezbarvou kapalinou s bodem tuhnutí $3\text{ }^{\circ}\text{C}$ a teplotou varu $315\text{ }^{\circ}\text{C}$ [36, 37]. Základní vlastnosti isopropylmyristátu jsou uvedeny v tabulce 4.

Tabulka 4: Základní vlastnosti isopropylmyristátu [37, 38].

Charakteristické vlastnosti isopropylmyristátu	
Vzorec	
Vlastnosti	bezbarvý, prakticky bez zápachu
Viskozita	nízká
Bod varu	$315\text{ }^{\circ}\text{C}$
Bod tání	$3\text{ }^{\circ}\text{C}$
Hustota	$0,8532\text{ g/cm}^3$ při $20\text{ }^{\circ}\text{C}$
pH	7,17
Rozpustný v	ricinovém oleji, bavlníkovém oleji, acetonu (velmi dobře), chloroformu, ethylacetátu, ethanolu, toluenu, minerálním oleji, etheru, benzenu, vodě (velmi málo – $2,44 \times 10^{-2}\text{ mg/l}$ při $25\text{ }^{\circ}\text{C}$)
Nerozpustný v	glycerolu, propylenglykolu
Stabilita	odolává oxidaci, (nemá tendenci žluknout), může docházet k transesterifikaci a dalším typickým reakcím esterů
Rozklad	při zahřátí na teplotu rozkladu uvolňují toxický kouř a výpary

Estery mastných kyselin mají širokou škálu aplikací v průmyslových odvětvích, jako je kosmetický, potravinářský, farmaceutický, potahový průmysl, mazadla, bionafta, atd. Estery mastných kyselin zahrnují methylestery, isopropylestery, butylestery, parciální glyceridy a estery vosků (estery mastných kyselin s dlouhými řetězci mastných alkoholů) a esterové oleje (estery mastných kyselin s polyalkoholy). Běžně používaný ester mastné kyseliny je isopropylmyristát (IPM), který je hlavním cílem dále zmíněného výzkumu. IPM, isopropyl ester kyseliny myristové, se používá v kosmetice jako náhražka přírodních olejů, protože má vynikající roztírací vlastnosti a snadno

se vstřebává do pokožky [39]. Jedná se o synteticky připravený produkt, který zjemňuje a vyhlazuje pokožku a vlasy. Je odolný vůči oxidaci, snižuje lepivost a navozuje na kůži pocit suchosti [35].

Existuje mnoho důvodů proč je isopropylmyristát oblíbeným v kosmetických přípravcích pečujících o pleť. Jedním z nejčastějších důvodem je jeho schopnost hydratovat pokožku. Jako změkčovaadlo pomáhá posilovat přirozenou bariéru pokožky proti ztrátě vlhkosti a tím pomáhá pokožce zůstat hydratovanou. Další výhodou je jeho schopnost zahušťovat kosmetické přípravky. I když hustota přípravku vždy nemusí značit lepší účinky na pokožku, může působit příjemnějším dojmem při aplikaci a zvýšit tak atraktivnost výrobku pro spotřebitele. Dále je ceněn za svou schopnost zlepšit celkovou strukturu výrobku s vysokým obsahem olejů. Produkty s různými oleji bývají pro kůži prospěšné, ale nevýhodou je mastný pocit po použití kosmetických přípravků s velkým obsahem olejů. Zahrnutí isopropylmyristátu do kosmetického přípravku způsobí příjemnější a méně mastný pocit při jeho aplikaci na pokožku. Nejdůležitějším důvodem používání isopropylmyristátu v kosmetice je jeho vysoká schopnost penetrace kůží. Díky tomu je schopen dopravit chemikálie hlouběji do kůže, které mohou napomoci regeneraci kůže. Zvyšuje se tak účinnost produktu [40].

Pro svou dobrou absorpci kůží je často využíván v kosmetických přípravcích [36]. Hojně je využíván ve farmaceutickém průmyslu a v kosmetickém průmyslu v hydratačních přípravcích, podkladových krémech, očních stínech, tvářenkách, pleťových vodách, vlasových gelech, deodorantech, atd. [35]. Isopropylmyristát nachází také mnohé využití v potravinářském, kosmetickém a farmaceutickém průmyslu jako změkčovaadlo, zahušťovaadlo nebo mazivo [39]. Isopropylmyristát se používá většinou v kombinaci s jinými látkami, kdy každá má svou určitou úlohu. Např. propylenglykol, glycerin (hydratace), rozpustný kolagen (obnova proteinových vláken vyztužujících pokožku), arginin (zvýšení regenerační schopnosti pokožky), atd. [40].

Přestože je isopropylmyristát považovaný za neškodný, mohou se vyskytnout některé nežádoucí účinky [40]. Jen při vyšších koncentracích (od 15%) se může zřídka vyskytnout podráždění očí a může dráždit i kůži, zvláště pokud je používán osobou

s citlivou pokožkou nebo v oblastech, kde je kůže tenká (kolem očí či rtů) [35]. Podráždění bývá způsobeno schopností isopropylmyristátu zvýšit penetraci některých škodlivých chemikálií, které následně způsobí podráždění kůže [40]. Ve vyšších koncentracích může být komedogenní (zanáší a ucpává kožní póry), což není vhodné pro mastnou a problematickou pokožku. Není fototoxický, fotoalergický, karcinogenní ani genotoxický [35].

I když je isopropylmyristát široce využíván v oblasti péče o pokožku, je možné jej nahradit např. včelím voskem, olivovým olejem, lanolinem. Pro nahrazení účinku zvýšené penetrace lze použít tetrasodnou EDTA [40].

Syntéza isopropylmyristátu

Konvenční metody syntézy IPM zahrnují použití chemického katalyzátoru při vysokých teplotách. To však vede k nežádoucím změnám konečného produktu, jako jsou barva, zápach a stabilita, proto je potřeba vylepšovat jednotlivé kroky rafinace pro zlepšení celého procesu. V současné době je použití enzymaticky katalyzované reakce zaměřeno na nahrazení konvenčních metod. Nedávno byly popsány různé katalýzy pro vytvoření esterů na bázi lipázy [41, 42].

Ve studiích byla sledována lipázou katalyzovaná esterifikace kyseliny myristové a isopropylalkoholu za vzniku isopropylmyristátového esteru [43]. Pro esterifikační reakci byly použity organická rozpouštědla heptan a petrolether. Použití takovýchto organických rozpouštědel však vytváří dvoufázový systém, který má problémy s dalším zpracováním. Navíc je třeba vyřešit nižší rychlost reakce a lepší výtěžek enzymatické reakce pro vysokou účinnost syntézy isopropylmyristátu [39].

Ve studii [39] je uvedena „green“ **syntéza isopropylmyristátu v jedno fázovém médiu**. Při použití homogenní reakční fáze je pro enzymatickou syntézu isopropylmyristátu nejvhodnější lipáza pocházející z *Candida antarctica* (druh houby produkující lipázu B), prodáváná jako Novozym 435. Vysoký molární poměr alkoholu ke kyselině vytváří jednofázové médium, které usnadňuje následné zpracování. Účinek různých reakčních parametrů byl optimalizován tak, aby bylo dosaženo vysokého

výtěžku isopropylmyristátu. Reakce byly prováděny smícháním isopropyl alkoholu s kyselinou myristovou ve specifickém molárním poměru. Reakce byla zahájena přidáním katalyzátoru (Novozym 435) a prováděna orbitálním protřepáním při teplotě 60 °C. Vzorky byly odebírány v různých časových intervalech a byla analyzována tvorba produktu. Přeměna na isopropylmyristát byla 87,65% za vzniku jednofázového systému. Novozym 435 byl velmi účinný i bez použití rozpouštědel [39]. Analýza založená na krystalové struktuře *Candida antarctica* lipázy B (Novozym 435) jasně ukazuje přítomnost aminokyselinového zbytku, jako součást α -šroubovice ve vysoce hydrofobním prostředí [44]. Toto uspořádání podporuje správnou interakci kyseliny myristové a isopropylalkoholu. Použité teploty při syntéze byly 30, 40, 50, 60, 70° C [39].

Bylo zjištěno, že zvýšení teploty zvyšuje počáteční rychlost syntézy. Vyšší teploty zvyšují kinetickou energii systému a tím srážky mezi molekulami enzymu a substrátu. Zvýšení teploty také zlepšuje rozpustnost substrátu, snižuje viskozitu a přenos hmoty. Celkově dochází ke zrychlení reakční rychlosti. Tepelná deaktivace lipázy nastává při teplotě 70 °C. Aktivační energie isopropylmyristátu je 37,13 kJ/mol a hodnota změny entalpie je -5,68 kJ/mol. Záporná hodnota znamená, že reakce předává energii do okolí. Produktivita isopropylmyristátu se v rozmezí přidaného množství enzymu 1–4 hm. % zvyšovala. Dalším zvyšováním produktivita nenarůstala, proto jako optimální množství biokatalyzátoru jsou považovány 4 hm. % [39]. Při tomto množství všechna dostupná aktivní místa enzymu jsou už obsazena molekulami substrátu [45]. Výběr organického rozpouštědla je velmi důležitý pro dosažení účinné esterifikace. Aktivita enzymu je vyšší v nepolárním rozpouštědle ($\log P > 4$) a ve středně polárních rozpouštědlech ($2 < \log P < 4$). Nepolární rozpouštědla neodstraňují vrstvu vody kolem enzymu [39]. Obecně lze říci, že organické rozpouštědlo s vyššími hodnotami $\log P$ je vhodné pro optimální vyvážení lipázové aktivity a stability [46]. Bylo zjištěno, že ke snížení enzymatické aktivity a k deaktivaci lipázového enzymu v důsledku isopropylalkoholu nedochází. Tyto výsledky poukazují na možnost využití přípravku Novozym 435 pro rozsáhlou enzymatickou syntézu [39]. Obnova zbylého substrátu a konečného produktu je důležitá pro průmyslovou výrobu. Proto na konci esterifikační

reakce byl přebytek isopropylalkoholu destilován a získán dehydratací. Nezreagovaná kyselina myristová byla získána použitím studeného odstředění nízké teplotě (0 °C). Tekutý isopropylmyristát se dá oddělit od tuhé hmoty studeným odstředěním za získání výsledné čistoty 97% [39].

Optimalizace z hlediska provozního molárního poměru mastné kyseliny k alkoholu (1:15) a použitím katalyzátoru (4 % hmotnosti substrátu) vede k 87,65 % přeměně za dobu pěti hodin. Obnova isopropylmyristátu (97%) destilací a odstředěním za studena zajišťuje recyklovatelnost obou substrátů. Uvedená studie jasně demonstruje výhody použití homogenního jednofázového reakčního prostředí pro lipázou zprostředkovanou esterifikaci mastných kyselin. Výhodou je možnost provozu systému v kontinuálním režimu za účelem dosažení vysoké produktivnosti procesu. Pravděpodobně se jedná o vysoce výkonný způsob enzymatické syntézy isopropylmyristátu [39].

Další práce se zabývala komplexní studií reakčních parametrů ovlivňující enzymatickou syntézu isopropylmyristátu v kontinuálním „packed-bed“ reaktoru. Za účelem zlepšení výtěžku esterifikace bylo u „packed-bed“ reaktorů zajištěno odstranění vody. Vyvinutý proces vedl k 98,5% přeměně. Imobilizovaná lipáza B z *C. antarctica* stabilně pracovala po dobu nejméně padesáti dnů a bylo dosaženo výtěžku 26 mM/g/h pro isopropylmyristát. Dlouhodobá stabilita biokatalyzátoru v reakčním systému homogenní fáze potvrdila vhodnost postupu pro zefektivnění syntézy isopropylmyristátu [47].

Propylenglykol dicaprylate/dicaprate

Propylenglykol dicaprylate/dicaprate je diester propylenglykolu a mastných kyselin (směs propylenglykolu-dicaprylate a propylenglykolu-dikapratu). Tato sloučenina se výrazně liší od propylenglykolu. Jedná se o látku, která využívá složky mastných kyselin k zlepšení tvorby mazu a pružnosti kožních buněk. Podle výzkumů podporuje v kombinaci s bílkovinami zdraví kůže. V kosmetických přípravcích se používá jako přísada zvlhčovačů, čisticích prostředků, vonných výrobků a make-upů (podkladové krémy a rtěnky). Studie týkající se podráždění pokožky posouzené expertem společnosti Cosmetic Ingredient Review zjistily, že způsobuje minimální až žádné podráždění

a není komedogenní. Mastné kyseliny a propylenglykol jsou negativní z hlediska mutagenity, chronické toxicity a podráždění pokožky. Propylenglykol dicaprylate/dicaprate je považován za zesilovač penetrace (může zesílit penetraci jiných chemikálií), proto bychom měli být opatrní při užívání produktů, které jej obsahují v kombinaci s jinými složkami [48].

Přírodní oleje se schopností absorbovat UV záření

Vzhledem k požadavkům spotřebitelů je nutné vyvíjet přípravky, které by měly vysokou účinnost a také byly na přírodní bázi. V dnešní době je žádaný přírodní původ kosmetických výrobků využívající co neméně synteticky připravené složky. To vše za vidinou menšího škodlivého účinku na životní prostředí a lidský organismus. Tato kapitola uvádí, že i oleje samy o sobě mohou mít schopnost absorbovat škodlivé UV záření a proto by mohly být vhodnou přísadou opalovacích přípravků.

V oblasti přírodních olejů je nutné první poznamenat, že přírodní oleje nelze využívat samostatně jako opalovací přípravek. V dnešní době lidé používají kokosový olej, mandlový olej, olej z malinových semen a bambucké máslo ochranu proti slunečnímu záření, nicméně tento trend není vůbec doporučován. Při použití pouhých olejů je vysoká možnost vzniku melanomu [49].

Bylo zjištěno, že kombinace oleje z malinových semen, oleje z rýžových otrub s přidáním 3,5 % absorbátorů butyl-methoxydibenzoylmethanu a oktokrylenu dovoluje průchod 7–9 % UVA a UVB záření. Tato kombinace odpovídá přibližně faktoru SPF 7–11. Tedy rozšířený názor, že olej z malinových semen se dá použít místo opalovacího přípravku je mylný. Dalším olejem, který by měl mít schopnost ochrany proti slunečnímu záření je kokosový olej. U testů *in vitro* v Petriho miskách byla sice zjištěna schopnost přirozeného ochranného faktoru o přibližné hodnotě SPF 7, ale další testy uvádějí ochranný faktor SPF nižší než 1. Také mandlový olej byl již studován na schopnost ochrany před slunečním zářením. Největším problémem je skutečnost, že všechny oleje získané z konkrétní rostliny nemají stejnou schopnost ochrany před slunečním zářením. Záleží na době sklizně a podmínkách skladování [49].

Vzhledem k těmto tvrzením se nedají pouhé přírodní oleje považovat za vhodné ochranné prostředky proti slunečnímu záření. Pokud se tedy člověk chce vyhnout používání běžným chemickým opalovacím přípravků, pak se doporučuje kombinace výše zmíněných olejů s fyzikálními blokátory (např. ZnO, TiO₂). Ty nemají takovou schopnost proniknout hluboko do kůže a mělo by být možné je snadněji umýt z povrchu kůže [49].

Samostatné oleje nelze považovat za schopné opalovací prostředky, přesto je potřeba sledovat jejich absorpční vlastnosti pro vytvoření ideálního opalovacího přípravku. Aby byly oleje efektivní v prevenci proti spálení či jiným poškozením kůže, měly by mít opalovací přípravky široký rozsah absorpance (290–400 nm). *In vitro* určení SPF je užitečné při vývoji produktu pro doplnění *in vivo* hodnocení SPF. Za použití Mansur matematické rovnice byly zhodnoceny vybrané těkavé a netěkavé bylinné oleje v oblasti vlnových délek 290–320 nm [50]. Hodnoty SPF jednotlivých olejů jsou uvedeny v tabulce 5.

Tabulka 5: Spektrofotometricky vypočítané hodnoty slunečního ochranného faktoru (SPF) konkrétních přírodních olejů [50].

Netěkavé oleje	SPF	Těkavé oleje	SPF
olivový olej	7,55	pepermintový olej	6,67
kokosový olej	7,12	olej z bazalky posvátné	6,57
ricinový olej	5,69	olej z citronové trávy	6,28
mandlový olej	4,66	levandulový olej	5,62
hořčičný olej	2,11	pomerančový olej	3,98
sezamový olej	1,77	citronový olej	2,81

Nejvyšší hodnoty SPF (kolem SPF 8) byly zjištěny u netěkavého olivového oleje a kokosového oleje. Ricinový olej má hodnotu SPF kolem 6. Vzhledem k těmto výsledkům, je předpoklad, že tyto oleje by měly patřit k nejvhodnějším pro užití do opalovacích krémů, díky své přirozené schopnosti absorbovat záření. U těkavých olejů měly nejvyšší hodnoty SPF pepermintový olej a olej z bazalky posvátné (SPF přibližně 7), dalším byl levandulový olej a pomerančový olej (SPF kolem 6 a 4).

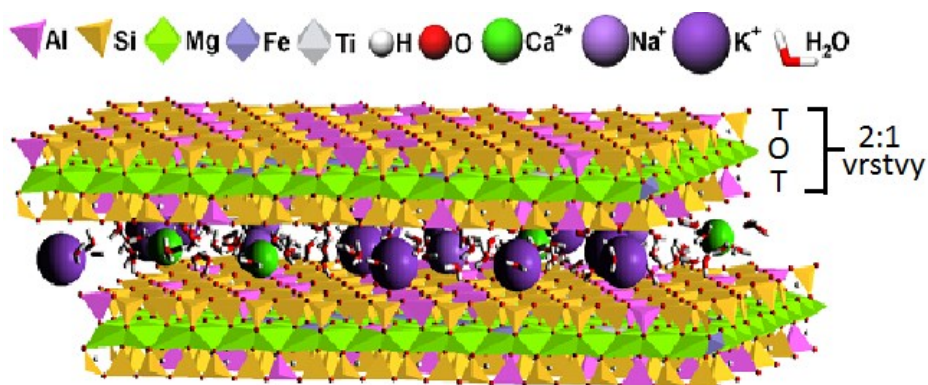
Vzhledem k těkavosti lze uvedené oleje použít jako přírodní parfémy u opalovacích přípravků, které by mohly přispět výslednému SPF faktoru opalovacího přípravku [50].

Pro zvýšení bezpečnosti opalovacích přípravků a jejich účinnosti je nutné sledovat fyzikálně-chemické vlastnosti aktivních (blokátory, absorbéry) a také pasivních (nosiče aktivních látek, změkčovadla, vonné látky, emulgátory, atd.) složek opalovacích přípravků. Pasivní složky mohou ovlivnit aktivní složky a následně i celkovou účinnost opalovacího přípravku [50].

1.3 Vermikulit

Tato kapitola podává krátké přiblížení struktury a charakteristiky vermikulitu, který je použit v experimentální části (kapitola 2.1.1.) pro přípravu nanokompozitního materiálu ZnO/vermikulit za účelem snížení toxického účinku nanočástic ZnO.

Vermikulit se řadí do skupiny fylosilikátů, která je podskupinou velké skupiny jílových minerálů a jílu. Fylosilikáty (vrstevnaté silikáty) jsou význačné strukturou tvořenou z dvourozměrných sítí tetraedrů a oktaedrů. Vermikulit s vrstevnatou strukturou typu 2:1 (Obr. 8) má dvě sítě tetraedrů s opačnou polaritou spojené jednou sítí oktaedrů. V reálné struktuře připadá šest oktaedrů na osm tetraedrů. Tetraedrická síť (T) vermikulitu obvykle obsahuje tetraedry $[\text{SiO}_4]^{4-}$, $[\text{AlO}_4]^{5-}$ nebo $[\text{FeO}_4]^{5-}$. Oktaedrická síť (O) je tvořena dvěma rovinami aniontů O^{2-} a OH^- , umístěnými v těsné blízkosti. Místo setkání dvou povrchů rovin bazálních kyslíků tetraedrické sítě se nazývá mezivrstevní prostor. V mezivrstevním prostoru se mohou nacházet hydratované výměnné kationty anorganických kovů Mg^{2+} , K^+ , Li^+ , Ca^{2+} , Na^+ a Ba^{2+} . V závislosti na obsahu výměnných kationtů se náboj vermikulitu pohybuje kolem 0,2–0,6 mol na vrstvu 2:1 (vzorcovou jednotku) [51].



Obr. 8: Model struktury vermikulitu z Brazílie [51].

Vrstevnatá struktura vermikulitu umožňuje důležité procesy modifikace, jako jsou interkalace, exfoliace a delaminace, ty mohou podstatně změnit fyzikálně-chemické vlastnosti výsledného nanokompozitu. Při interkalaci dochází k přemístění atomů, iontů a molekul (hostů) do mezivrstevního prostoru (hostitele). Interkalace hostů způsobuje rozšíření mezivrstevních vzdáleností. K exfoliaci dochází v disperzi, rozpouštědle či polymerní matrici, kdy vznikají volné na sobě nezávisle orientované vrstvy. Delaminace je proces oddělování jednotlivých vrstev, ale s uchováním uložení vrstev [52].

Vlastnosti výsledného nanokompozitu se odvíjí od typu použitého hosta. Za použití nanočástic oxidu zinečnatého je možné získat nanokompozit se schopností absorbovat UV záření v určitých vlnových délkách, kdy upevnění nanočástic ZnO (host) na vermikulitovou matrici (hostitel) způsobí eliminaci uvolnění nanočástic do prostředí a zamezí se jeho toxickým účinkům [53]. Vermikulit sám o sobě nevykazuje toxické účinky na organismy savců [54].

Obecné využití jílu a jílových minerálů v kosmetice je poměrně rozsáhlé. Využívají se hlavně jejich typické vlastnosti, jako jsou velký specifický povrch, vysoká absorpční kapacita, mechanické vlastnosti, chemická inertnost a nízká či nulová toxicita. Další výhodou je jejich přírodní původ. Směs jílu a vody může být přímo aplikovaná na kůži jako obklad stimulující hojení ran, vředů a akné. Ve farmacii jsou využívány k výrobě prášků, krémů a mastí chránících pokožku před vnějšími vlivy a bakteriemi. Růst

bakterií je zabráněn vlivem nepříznivého účinku povrchového náboje nebo náboje na okraji jílového minerálu na bakterie. Jílové minerály jsou také schopné absorbovat lipidy a toxiny. Vzhledem k vysokému specifickému povrchu jílu a jílových minerálů se předpokládá, že mohou podporovat schopnost absorpce UV záření opalovacího přípravku nebo mít schopnost odrážet UV záření [55]. Vermikulit je jílový minerál, který má široké uplatnění v kosmetickém průmyslu pro svou schopnost podporovat hojení ran a stahovat póry. I když v této oblasti má vermikulit mnohé uplatnění, u nanokompozitního materiálu ZnO/vermikulit nejsou doposud známy konkrétní možnosti využití. Mohlo by se jednat o novou aplikační oblast.

2 Experimentální část

Experimentální vzorky byly připraveny za spolupráce firmy Bochemie a.s. a laboratoří Centra nanotechnologií (VŠB-TU Ostrava).

V první části experimentální práce byly připraveny pomocí sonochemické syntézy nanočástice oxidu zinečnatého (dále značeno U(ZnO(ac)) a nanočástice nanokompozitů oxid zinečnatý/vermikulit (dále značeno U(ZnO(ac)/V). Ty byly spolu s komerčními vzorky oxidu zinečnatého nZ_BOCH01 a nZ_BOCH03 ve spolupráci s firmou Bochemie a.s. zamíchány pomocí mlecích technik do olejové suspenze na bázi isopropylmyristátu (dále značen IPM). Pro komplexnější vyhodnocení následných analýz byla vytvořena i suspenze isopropylmyristátu s vermikulitem (dále značeno V/IPM). U připravených suspenzí byla sledována stabilita v průběhu času z hlediska velikosti částic, jejich aglomerace a Zeta potenciálu. V druhé části byly sledovány toxické účinky připravených olejových suspenzí a jednotlivých práškových nanoplňiv suspenzí.

2.1 Příprava vzorků

Jako prekurzory pro přípravu nanočástic ZnO byly použity acetát zinečnatý (Sigma Aldrich, 99%) a bezvodý uhličitan sodný (Lachner, $M = 105,99$ g/mol). Pro přípravu nanokompozitního materiálu byl využit Mg-vermikulit původem z Brazílie s velikostí částic pod 40 μm (dále značen jako VM).

2.1.1 Příprava nanočástic ZnO a nanokompozitního materiálu ZnO/vermikulit

Nanočástice byly připraveny sonochemickou syntézou pomocí kompaktní ultrazvukové laboratoře UP100H s titanovou sonotrodou. Dále použitými přístroji byly odstředivka Ependorf, sušárna Memmert a kalcinační pec LAX. Prekurzory pro sonochemickou syntézu byly acetat zinečnatý a uhličitan sodný.

Navážené prekurzory (acetat zinečnatý a uhličitan sodný) byly převedeny do kádinky za vzniku vodného roztoku. Kádinka s roztokem byla umístěna na regulovatelný pracovní stůl pod Ti-sonotrodu. Podmínky působení sonotrody byly

15 minut s 50% amplitudou. První krok ideálního průběhu vzniku nanočástic ZnO při působení ultrazvuku na prekursor (acetát zinečnatý a uhličitan sodný) rozpuštěné ve vodě lze teoreticky popsat následující reakcí (1):



Vzorek byl promýván destilovanou vodou a dále odstředěn (3 min, 4000 ot/min). Kapalná část byla slita a pevná část byla vysušena při 75 °C po dobu 24 hod. Vysušený vzorek byl kalcinován v muflové peci při teplotě 350 °C po dobu 1,5 hodiny, kdy průběh přeměny na nanočástice ZnO lze popsat reakcí:



Tepelně zpracované vzorky byly rozetřeny v třecí misce. Nanokompozitní materiál byl připraven obdobně jako nanočástice ZnO, jen prekursor byly acetát zinečnatý, uhličitan sodný a vermikulit v hmotnostní poměru 1:1:1.

V rámci spolupráce se společností Bochemie a.s., s cílem porovnání a následného aplikačního využití, bylo pro experimentální práci použito dvou poskytnutých vzorků nanočástic ZnO označených nZ_BOCH01 a nZ_BOCH03. Bochemie a.s. vyvinula technologii přípravy nanočástic ZnO s extrémně vysokým specifickým povrchem ve srovnání s jinými komerčně připravenými nanočásticemi ZnO [56].

2.1.2 Příprava suspenzí na bázi isopropylmyristátu

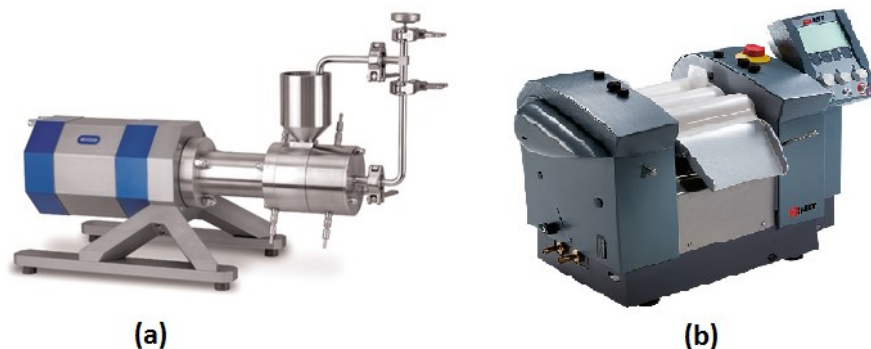
Pro přípravu suspenzí byl použit isopropylmyristát (Berga-Care EM 14, Oqema). Nanoplniva nZ_BOCH01, nZ_BOCH03, U(ZnO(ac)), U(ZnO(ac)/V) a VM byly suspendovány v isopropylmyristátu (IPM) tak, aby bylo ve výsledné suspenzi 50 hm. % nanoplniva. Tabulka 6 poskytuje shrnutí značení všech experimentálních vzorků.

Tabulka 6: Označení experimentálních vzorků – práškové nanoplniva a k nim příslušející suspenze.

Nanoplnivo	Suspenze	Popis suspenze
nZ_BOCH01	nZ_BOCH01_IPM	komerčně připravené nanočástice oxidu zinečnatého suspendované v isopropylmyristátu
nZ_BOCH03	nZ_BOCH03_IPM	komerčně připravené nanočástice oxidu zinečnatého suspendované v isopropylmyristátu
U(ZnO(ac))	U(ZnO(ac))_IPM	sonochemicky připravené nanočástice oxidu zinečnatého suspendované v isopropylmyristátu
U(ZnO(ac)/V)	U(ZnO(ac)/V)_IPM	sonochemicky připravený nanokompozitní materiál nanočástic oxidu zinečnatého a vermikulitu suspendované v isopropylmyristátu
VM	VM_IPM	vermikulit suspendovaný v isopropylmyristátu

Pro homogenizaci a vytvoření suspenzí byl použit perlový mlýn DYNO®-MILL RESEARCH LAB (RL) (obr. 9 (a)) a tříválec Exakt 80 (obr. 9 (b)). Pro předispergci suspenzí bylo použito kotvové teflonové míchadlo.

Perlový mlýn umožňuje reprodukovatelné mletí produktů o různých viskozitách a produkci ultrajemných disperzí o velikostech částic v mikrometrech i nanometrech. Pro vysokou odolnost proti otěru jsou pro díly, přicházející v průběhu mletí do styku s produktem, použity speciální materiály (např. tvrzená chromová slitina nebo keramické materiály). Principem mletí je urychlování mlecích elementů patentovaným DYNO akcelerátorem. Mlecí elementy jsou udržovány v mlecí komoře pomocí plochého síta umístěného na straně výstupu produktu z mlecí komory. Objem mlecí komory je 75 ml, minimální objem dávky je 100 ml, rychlost otáček hřídele je v rozmezí 1500–6000 ot/min a spotřeba chladicí vody motoru je 100–240 l/h [57].



Obr. 9: (a) perlový mlýn DYNO®-MILL RESEARCH LAB (RL) a (b) tříválec Exakt 80 [57, 58].

Tříválec EXAKT 80 je prostorově úsporný stolní mlýn. Hlavní mlecími tělesy jsou tři válce, které mohou být z oceli, tvrdého chromu nebo oxidu hlinitého. Přístroj má dvě rychlosti, díky čemuž umožňuje přizpůsobit výrobní rychlost viskozitě produktu. Pro snadné vkládání vzorků obsahuje násypku a pro očištění válců univerzální škrabku. Podstatnou součástí je beztlakový vnitřní oběhový systém pro řízení teploty (chlazení). Délka válců je 250 mm a průměr 80 mm. Maximální kapacita mlýnu je 20 l/hodinu. Jedná se o velmi snadno ovladatelný, spolehlivý a odolný přístroj, který je možné využít ve farmacii nebo v kosmetice [58]. Podmínky přípravy suspenzí shrnuje tabulka 7.

Tabulka 7: Shrnutí podmínek přípravy suspenzí.

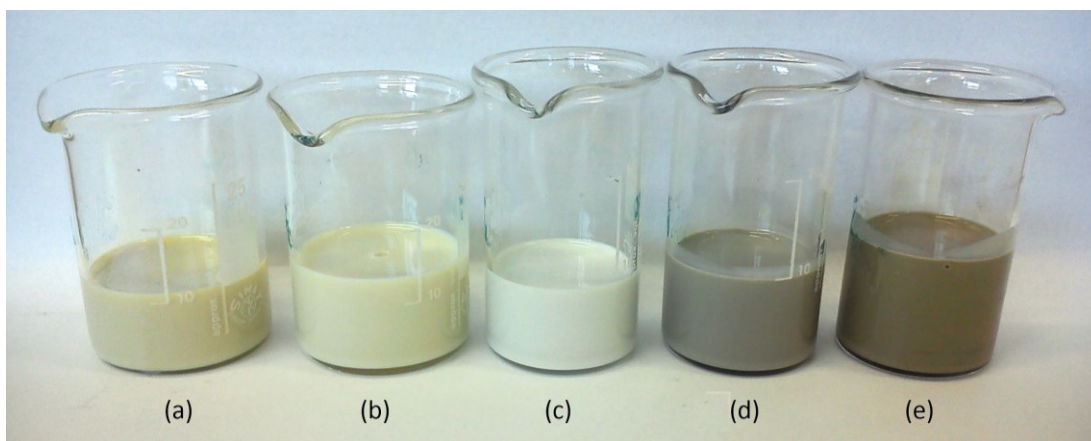
Označení suspenze	Typ navážky	Podmínky mletí
nZ_BOCH01_IPM	A s nanoplnivem nZ_BOCH01	mlýn RL (kuličky 0,3 mm, otáčky 3000 ot/min, doba mletí 2 hodiny)
nZ_BOCH03_IPM	A s nanoplnivem nZ_BOCH03	mlýn RL (kuličky 0,3 mm, otáčky 3000 ot/min, doba mletí 2 hodiny)
U(ZnO(ac))_IPM	A s nanoplnivem U(ZnO(ac))	předdispergace tetlonovým míchadlem, nebylo možné zpracovat na mlýnu RL (ucpání mlýnu) => byl použit tříválec
U(ZnO(ac)/V)_IPM	A s nanoplnivem U(ZnO(ac)/V)	předdispergace tetlonovým míchadlem + tříválec
VM_IPM	A s nanoplnivem VM	předdispergace tetlonovým míchadlem + tříválec

Obecná navážka A by měla obsahovat procentuální zastoupení 44 hm. % isopropylmyristátu, 6 hm. % polyhydroxystearové kyseliny a 50 hm. % nanoplniva. Navážené kapalně suroviny byly míchány teflonovým míchadlem za postupného přidání navážky daného práškového nanoplniva. Po dokonalém promíchání prekurzorů pomocí kotvového teflonového míchadla následovalo u suspenzí nZ_BOCH01_IPM a nZ_BOCH03_IPM mletí na perlovém mlýnu DYNO®-MILL RESEARCH LAB (RL). Pro mletí byly použity kuličky YTZ o průměru 0,3 mm a otáčky 3000 ot/min. Suspenze byla mleta po dobu 2 hodin, kdy po celou dobu mletí byla suspenze míchána v zásobníku. Stejný postup nebyl zvolen pro přípravu suspenzí U(ZnO(ac))_IPM, U(ZnO(ac)/V)_IPM a VM_IPM vzhledem k ucpání mlýnu. Tyto vzorky byly, po dokonalém promíchání prekurzorů pomocí kotvového teflonového míchadla, mlety/dispergovány v tříválci Exakt 80. Teplota mletí všech suspenzí se pohybovala v rozmezí 45–60 °C (většinu času byla hodnota teploty udržena pod 50 °C).

2.2 Charakterizace experimentálních vzorků

Připravené experimentální vzorky byly charakterizovány s přístrojovým vybavením laboratoří Centra nanotechnologii (VŠB – TU Ostrava).

Připravené suspenze měly rozdílnou barvu (Obr. 10). Vzorky nZ_BOCH01_IPM a nZ_BOCH03_IPM měly světle béžové zabarvení. Vzorek U(ZnO(ac))_IPM měl bílé zbarvení. Tyto tři suspenze se z estetického hlediska dají považovat za vhodné pro použití v opalovacích přípravcích. Suspenze U(ZnO(ac)/V)_IPM byla vlivem vermikulitu šedohnědého odstínu a suspenze VM_IPM byla hnědá. Tyto vzorky se pohledově nezdají být vhodné pro opalovací krémy, ale mohlo by být možné jiné využití. Například v regeneračních maskách, kde je větší zřetel brán na účinky přípravku, než na jeho vzhled.



Obr. 10: Barevně odlišnosti připravených suspenzí (a) nZ_BOCH01_IPM, (b) nZ_BOCH03_IPM, (c) U(ZnO(ac))_IPM, (d) U(ZnO(ac)/V)_IPM a (e) VM_IPM.

2.2.1 Měření viskozity a pH

Měření viskozity bylo provedeno na rotačním viskozimetru (VISKOBASIC plus, FUNILAB s.a.). Výsledky měření viskozity suspenzí, RPM (otáčky za minutu), SP (aktuálně použitý rotor pro dané měření) a zatížení jsou uvedeny v tabulce 8. Přesné měření by mělo mít hodnoty zatížení v rozmezí 15–95 %. Hodnoty naměřené mimo toto rozmezí, nelze považovat za zcela přesné.

Tabulka 8: Srovnání hodnot viskozity jednotlivých suspenzí.

IPM suspenze	Viskozita [Pa.s]	RPM	SP	Zatížení [%]
nZ_BOCH01_IPM	0,592	30	R2	44,4
nZ_BOCH03_IPM	0,069	100	R2	17,3
U(ZnO(ac))_IPM	1,659	30	R3	48,2
U(ZnO(ac)/V)_IPM	0,137	100	R2	34,2
VM_IPM	0,148	100	R2	37,0

Nejvíce viskózní byla suspenze U(ZnO(ac))_IPM, to způsobilo ucpání mlýnu RL. Vysoká viskozita je dána malými velikostmi částic (viz. kapitola 2.2.4) s tendencí aglomerovat. Druhou nejvyšší viskozitu měla suspenze nZ_BOCH01_IPM. Výrazné rozdíly viskozit byly naměřeny u vzorků nZ_BOCH01_IPM a nZ_BOCH03_IPM, kdy je tento rozdíl způsoben různými velikostmi částic a měrným specifickým povrchem. U vzorku U(ZnO(ac)/V)_IPM je viskozita podobná jako u vermikulitu suspendovaného

v isopropylymsristátu (VM_IPM), tedy přítomnost nanočástic ZnO výslednou viskozitu příliš neovlivnila. Došlo pouze k mírnému poklesu viskozity z hodnoty 0,1476 na 0,1368 Pa.s.

Měření pH suspenzí bylo provedeno pomocí indikačních papírků (Qty. 200, pH 1–14). Pro zjištění přesnějších hodnot pH nanoplňiv rozpuštěných v destilované vodě byl použit pH metr (pH Testr 20). Pro suspenze nebylo možné pH metr použít, vzhledem k množství vzorku. Naměřeny byly také hodnoty pH destilované vody a isopropylmyristátu. Veškeré naměřené hodnoty pH jsou uvedeny v tabulce 9.

Tabulka 9: Výsledky měření pH.

Nanoplňiva v destilované vodě	pH	IPM suspenze	pH
nZ_BOCH01	7,14	nZ_BOCH01_IPM	4
nZ_BOCH03	7,78	nZ_BOCH03_IPM	5
U(ZnO(ac))	11,01	U(ZnO(ac))_IPM	6
U(ZnO(ac)/V)	10,73	U(ZnO(ac)/V)_IPM	9
VM	10,24	VM_IPM	5
destilovaná voda	7,01	IPM	4

Všechna nanoplňiva rozpuštěné ve vodě o pH 7,01 mají neutrální až zásaditý charakter. Vzorky nZ_BOCH01 a nZ_BOCH03 měly neutrální charakter s hodnotami pH kolem 7, zatímco U(ZnO(ac)) byl silně zásaditý s hodnotou pH 11,01. Vysoká zásaditost je způsobena přítomností vzniklého octanu sodného. U vzorku U(ZnO(ac)/V) bylo pH ovlivněno především přítomností vermikulitu. pH VM rozpuštěného ve vodě je 10,24.

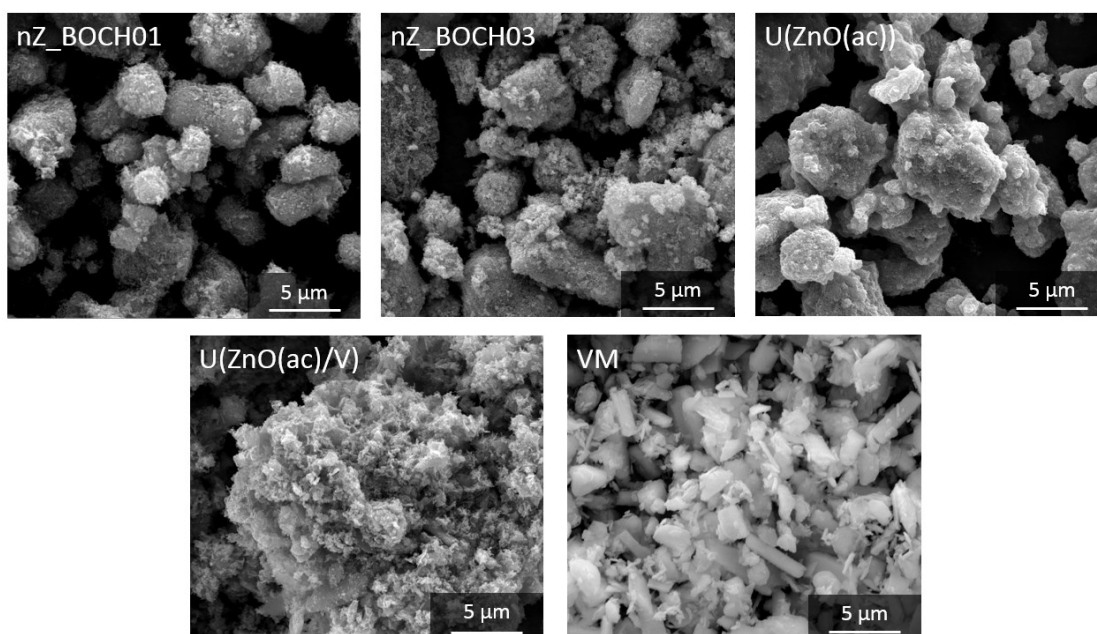
IPM suspenze měly převážně kyselý charakter, což bylo způsobeno kyselým charakterem čistého IPM s hodnotou pH 4. Výjimkou byla suspenze U(ZnO(ac)/V)_IPM s přibližnou hodnotou pH 9. Suspenze nZ_BOCH03_IPM měla vyšší hodnotu pH než nZ_BOCH01_IPM. Při srovnání suspenzí neobsahujících vermikulit, měla nejvyšší pH suspenze U(ZnO(ac))_IPM. Pro kosmetiku jsou většinou žádané výrobky mírně kyselého charakteru s pH kolem 4–5, neboť při tomto pH má

pokožka největší schopnost se bránit vnějším vlivům a má nejvyšší schopnost regenerovat. Z tohoto hlediska je pro použití do kosmetiky nejméně vhodná suspenze U(ZnO(ac)/V)_IPM.

2.2.2 Skenovací elektronová mikroskopie

Pro charakterizaci vzorků byl použit skenovací elektronový mikroskop (SEM) QUANTA FEG 450. Práškové nanoplňiva byly změřeny ve vysokém vakuu. Suspenze se nedaly zcela vysušit, proto je nebylo možné naměřit ve vysokém ani nízkém vakuu. Hrozilo poškození přístroje.

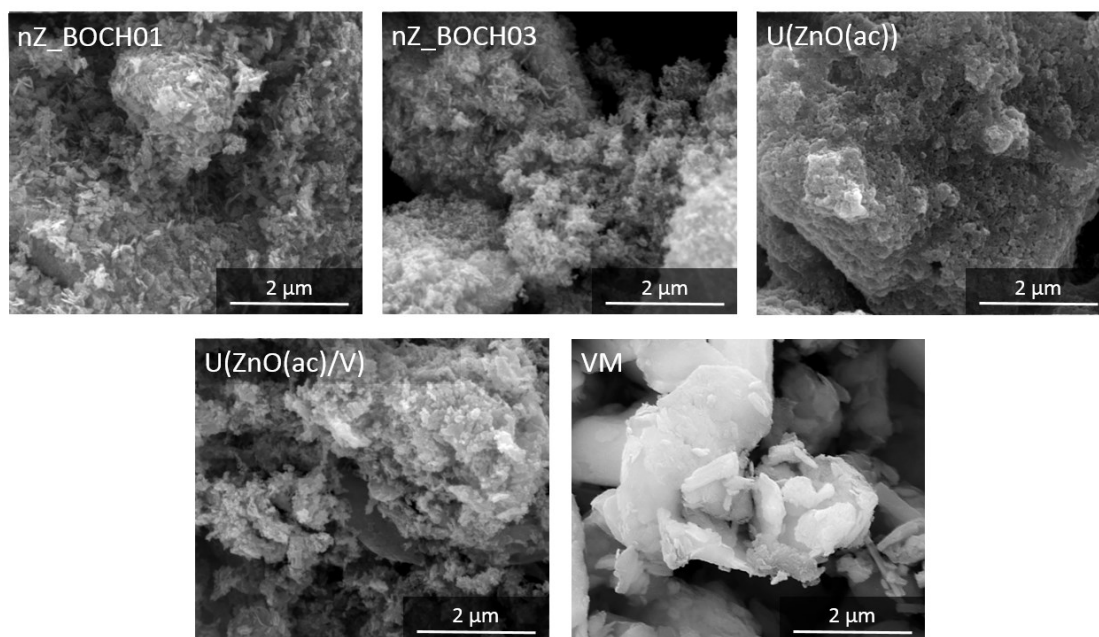
Práškové nanoplňiva byla připevněna na uhlíkovou pásku umístěnou na kovovém terčíku a následně naprášeny zlatem v proudu argonu v naprašovačce POLARON RANGE. Pro jednotlivá nanoplňiva byly pořízeny snímky v měřítku 2 a 5 μm (odpovídá zvětšení 50 000x a 12 000x) v režimu sekundárních elektronů. Šířka svazku byla 5 spot a použité napětí 15 000 kV. Jednotlivé SEM snímky práškových nanoplňiv jsou uvedeny při zvětšení 12 000x na Obr. 11 a v detailu při zvětšení 50 000x na Obr. 12.



Obr. 11: SEM snímky práškových nanoplňiv.

U práškových nanoplňiv nZ_BOCH01, nZ_BOCH03 a U(ZnO(ac)) lze pozorovat tendenci aglomerovat do větších shluků o přibližných velikostech 1–6 μm . U vzorku

U(ZnO(ac)/V) ke shlukování nanočástic ZnO do aglomerátu dochází minimálně. Nanočástice ZnO mají spíše tendenci směrového růstu na částicích vermikulitu. Růst na vermikulitu je rovnoměrný. Samotný vermikulit vytváří částice o velikosti 1–5 μm a různých tvarech s častým výskytem částic obdélníkového tvaru s různými poměry stran.



Obr. 12: SEM snímky práškových nanoplňiv, detail.

Při větším zvětšení (Obr. 12) je patrný detail struktury, resp. aglomerátů, všech nanoplňiv. Vzorek nZ_BOCH03 má z nanoplňiv obsahujících nanočástice ZnO bez vermikulitu nejjemnější strukturu s nejmenší tendencí vytvářet agregáty. Struktura je roztřepená a spíše jen dochází k aglomeraci nanočástic ZnO. Vzorek nZ_BOCH01 vytváří aglomeráty s méně roztřepeným povrchem. Shluky jsou tvořeny menšími šupinkovými a tyčinkovitými nanočásticemi ZnO. U komerčně připravených nanoplňiv je předpokládán největší měrný specifický povrch. U(ZnO(ac)) vytváří kompaktní aglomeráty s pórovitou strukturou, kdy lze u povrchu aglomerátu rozlišit malé kulovité nanočástice ZnO. U vzorku U(ZnO(ac)/V) dochází k směrovému růstu nanočástic ZnO hlavně u hran vermikulitových částic a i k mírnému růstu na plochách vermikulitových vrstev. Uchycení na vermikulitu zabraňuje aglomeraci nanočástic ZnO. Nanočástice

ZnO na vermikulitu jsou kulovitého a roztřepeného charakteru. Při rozlišení 2 μm je lepe viditelná vrstevnatá struktura vermikulitu.

2.2.3 Měrný specifický povrch

Měrný specifický povrch (SSA) byl naměřen metodou BET (Brunauerova, Emmettova a Tellerova teorie) na přístroji Thermo SCIENTIFIC SURFER. Vzorky byly před každou analýzou sušeny při 65 °C po dobu 12 hod.

Výsledky SSA jsou uvedeny v tabulce 10. Největší měrný specifický povrch mělo nanoplnivo nZ_BOCH01 (52,68 m^2/g). To potvrzuje předpoklad, vycházející ze snímků skenovacího elektronového mikroskopu (Obr. 11, 12), vysokého měrného specifického povrchu komerčně připravených nanočástic ZnO oproti U(ZnO(ac)). U vzorku nZ_BOCH03 byla naměřena hodnota SSA téměř o polovinu menší (27,79 m^2/g) než u nanoplniva nZ_BOCH01. Měrný specifický povrch je pravděpodobně silně ovlivněn tendencí nanoplniv aglomerovat. Jen mírně nižší hodnota byla naměřena u vzorku U(ZnO(ac)). Nejmenší měrný specifický povrch měl vzorek VM (14,790 m^2/g) a U(ZnO(ac)/V).

Tabulka 10: Hodnoty měrného specifického povrchu (SSA) jednotlivých nanoplniv.

Nanoplnivo	SSA [m^2/g]
nZ_BOCH01	52,68
nZ_BOCH03	27,79
U(ZnO(ac))	24,16
U(ZnO(ac)/V)	13,07
VM	14,79

2.2.4 Distribuce velikosti částic

Měření distribuce velikosti částic bylo realizováno s využitím laserového difrakčního analyzátoru HORIBA LA-950 se dvěma zdroji modrého a červeného světla s krátkou vlnovou délkou.

Z důvodu aglomerace nanoplniv byl každý vzorek dispergován v ultrazvukové lázni po dobu 30 sekund. Pro charakterizaci velikosti částic práškových nanoplniv byly použity průměrné hodnoty: mean (střední velikost částic) d_{43} , median (střední hodnota) d_{50} , modus (nejvíce zastoupená hodnota ve velikostním rozdělení) d_m , průměrná velikost částic v dolním decilu d_{10} a horním decilu d_{90} . Např. $d_{10} = 1,63 \mu\text{m}$ znamená, že 10 % částic je menších než $1,63 \mu\text{m}$.

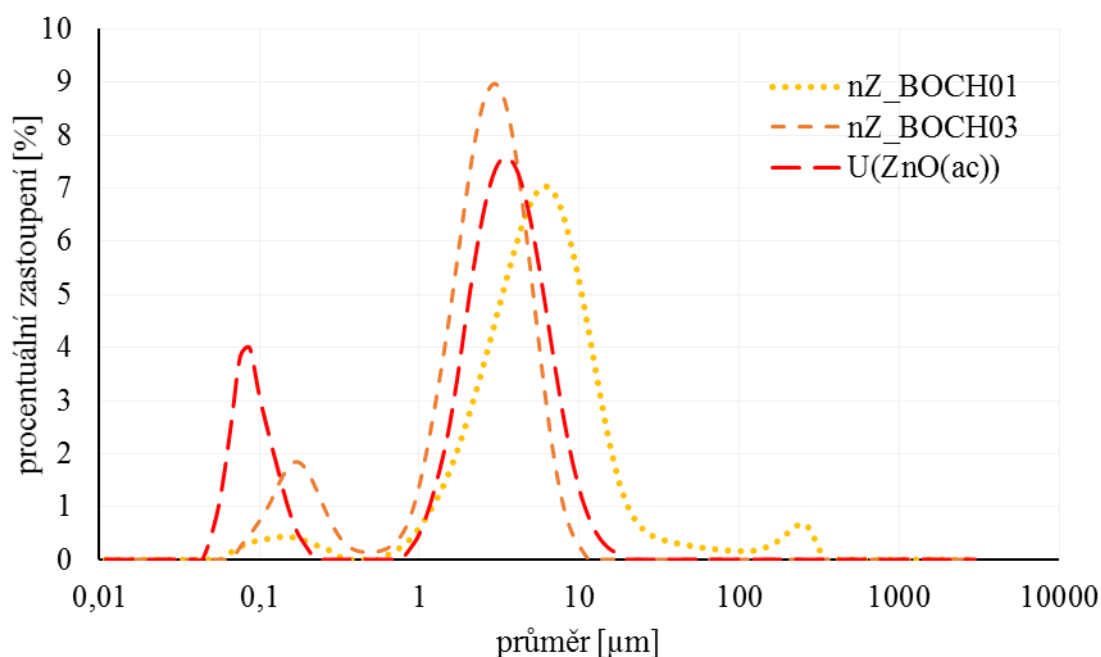
Výsledky distribuce velikosti částic jsou uvedeny v tabulce 11. Nejmenší velikost částic v dolním decilu ($d_{10} = 0,11 \mu\text{m}$) mělo nanoplnivo U(ZnO(ac)). Vzorek nZ_BOCH01 měl největší hodnotu $d_{10} = 1,63 \mu\text{m}$. Vzhledem k výsledkům specifického povrchu (viz. kapitola 2.2.3), je předpoklad, že výsledky distribuce velikosti částic u nanoplniva nZ_BOCH01 jsou hodně ovlivněny velkou tendencí nanočástic ZnO aglomerovat.

Tabulka 11: Velikosti částic nanoplniv.

Nanoplnivo	d_{50}	d_{43}	d_m [μm]	d_{10}	d_{90}
nZ_BOCH01	5,01	14,29	5,48	1,63	14,39
nZ_BOCH03	2,38	2,60	2,78	0,22	4,88
U(ZnO(ac))	2,35	2,60	3,19	0,11	5,75
U(ZnO(ac)/V)	2,72	9,50	0,21	0,16	12,67
VM	1,56	21,44	0,37	0,35	53,84

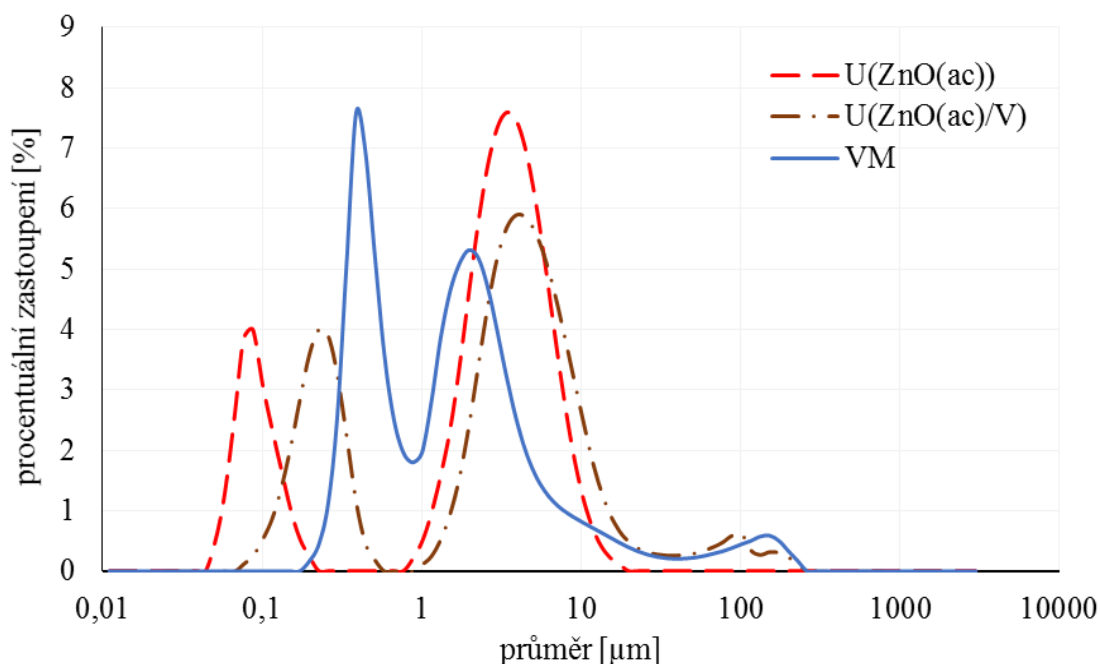
Veškerá nanoplniva vykazovala tendenci aglomerovat, což je patrné z převládajícího bimodálního charakteru distribucí velikosti částic (Obr. 13 a 14). Při porovnání nanoplniv obsahujících výhradně oxid zinečnatý (nZ_BOCH01, nZ_BOCH03 a U(ZnO(ac))), lze pozorovat největší procentuální zastoupení nanočástic ZnO u vzorku

U(ZnO(ac)), kdy se velikost částic pohybuje v rozmezí 0,07–0,30 μm . Podstatně nižší obsah nanočástic obsahoval vzorek nZ_BOCH03, u kterého se pohybovala velikost neaglomerovaných částic v rozmezí 0,08–0,51 μm . Největší tendenci aglomerovat vykazoval vzorek nZ_BOCH01 s nízkým procentuálním zastoupením nanočástic o velikostech 0,07–0,30 μm .



Obr. 13: Logaritmičká distribuce velikosti částic vzorků nZ_BOCH 01, nZ_BOCH 03 a U(ZnO(ac)).

Vermikulitové částice byly tvořeny dvěma velikostními frakcemi s průměrnými hodnotami částic 1,98 μm a jejich aglomeráty dosahujících velikostí 229,08 μm . Tyto hodnoty korespondují se SEM výsledky. Vypěstováním nanočástic ZnO na struktuře vermikulitu U(ZnO(ac)/V) došlo k zachování bimodálního charakteru křivek a jejich vyššímu uspořádání, což se projevilo snížením hodnot velikosti částic (Obr. 14). Velikost primárních částic se pohybovala v rozmezí 0,07–0,51 μm . Samotný vermikulit měl širokou distribuci velikosti částic (0,20–344,21 μm) s dvěma maximy o velikostech částic 0,39 a 1,98 μm .



Obr. 14: Logaritmičká distribuce velikosti částic vzorků U(ZnO(ac)), U(ZnO(ac)/V) a VM.

Přestože podle výsledků distribuce velikosti částic mělo nanoplivo nZ_BOCH01 největší střední hodnotu velikosti částic ($d_{50} = 5,01 \mu\text{m}$), vzhledem k výsledkům SSA a SEM snímkům je u něj předpokládána nejmenší velikost částic. Velikost částic tohoto vzorku je dána velkou tendencí vytvářet stabilní aglomeráty složené z nanočástic ZnO.

2.2.5 Rentgenová fluorescenční spektroskopie

Pro elementární analýzu bylo využito měření pomocí rentgenového fluorescenčního spektrometru (XRFS) AMETEX – Materials analysis division a výsledky byly vyhodnoceny pomocí softwaru X-LabPro.

Pro analýzu práškových nanopliv byly metodou lisování vytvořeny peletky obsahující 4 g nanopliva a 0,9 g vosku. Výsledky stanovení obsahu jsou uvedeny v oxidické formě (tabulka 12). Aby byla eliminována chyba vlivem vlhkosti vzorku byla u práškových nanopliv stanovena ztráta žíháním při teplotě 950 °C. Z výsledků ztrát žíháním (ZZ) byl proveden přepočítání výsledků na vysušený vzorek. U suspenzí

nebyla provedena ztráta žíháním. U práškových nanoplniv byl proveden přepočet výsledků na sto procent.

Tabulka 12: Procentuální obsah oxidických forem jednotlivých prvků v nanoplnivech.

Oxidická forma	Obsah oxidické formy [hm. %]				
	nZ_BOCH01	nZ_BOCH03	U(ZnO(ac))	U(ZnO(ac)/V)	VM
Na₂O	0,98	1,01	1,57	1,26	0,58
MgO	0,11	0,06	0,04	8,02	21,99
Al₂O₃	-	-	-	2,17	6,29
SiO₂	0,05	0,02	0,07	18,96	48,42
P₂O₅	-	-	-	0,04	0,12
K₂O	0,01	0,01	0,01	0,46	1,42
CaO	-	-	-	3,64	7,90
TiO₂	-	-	-	0,23	0,53
MnO	-	-	-	0,05	0,10
Fe₂O₃	-	-	-	2,38	5,05
ZnO	95,48	97,53	81,57	50,06	-
Suma	96,63	98,63	83,26	87,26	92,4
ZZ	3,37	1,37	16,74	12,74	7,6
Suma + ZZ	100	100	100	100	100

Z výsledků uvedených v tabulce 12 lze vidět, že nejvyšší obsah ZnO vykazovalo nanoplnivo nZ_BOCH03 (97,53 hm. % ZnO). Nanoplniva bez přítomnosti vermikulitu obsahovaly nečistoty o stopovém množství (např. Na₂O, MgO, SiO₂ a K₂O). Výsledný obsah oxidu zinečnatého v nanokompozitním materiálu U(ZnO(ac)/V) je 50,06 hm. %. Vermikulit vzhledem k vysokému procentuálnímu zastoupení oxidu křemičitého obsahuje převážně tetraedry [SiO₄]⁴⁻. Tetraedry [AlO₄]⁵⁻ a [FeO₄]⁵⁻ byly obsaženy v nižším množství. Vysoké procentuální zastoupení ve vermikulitu měl oxid hořečnatý (21,98%) a oxid vápenatý (7,9 %). Obsahy oxidu sodného byly zkresleny vlivem rozsahu metody, kdy dochází k překryvům signálu oxidu sodného a oxidu zinečnatého.

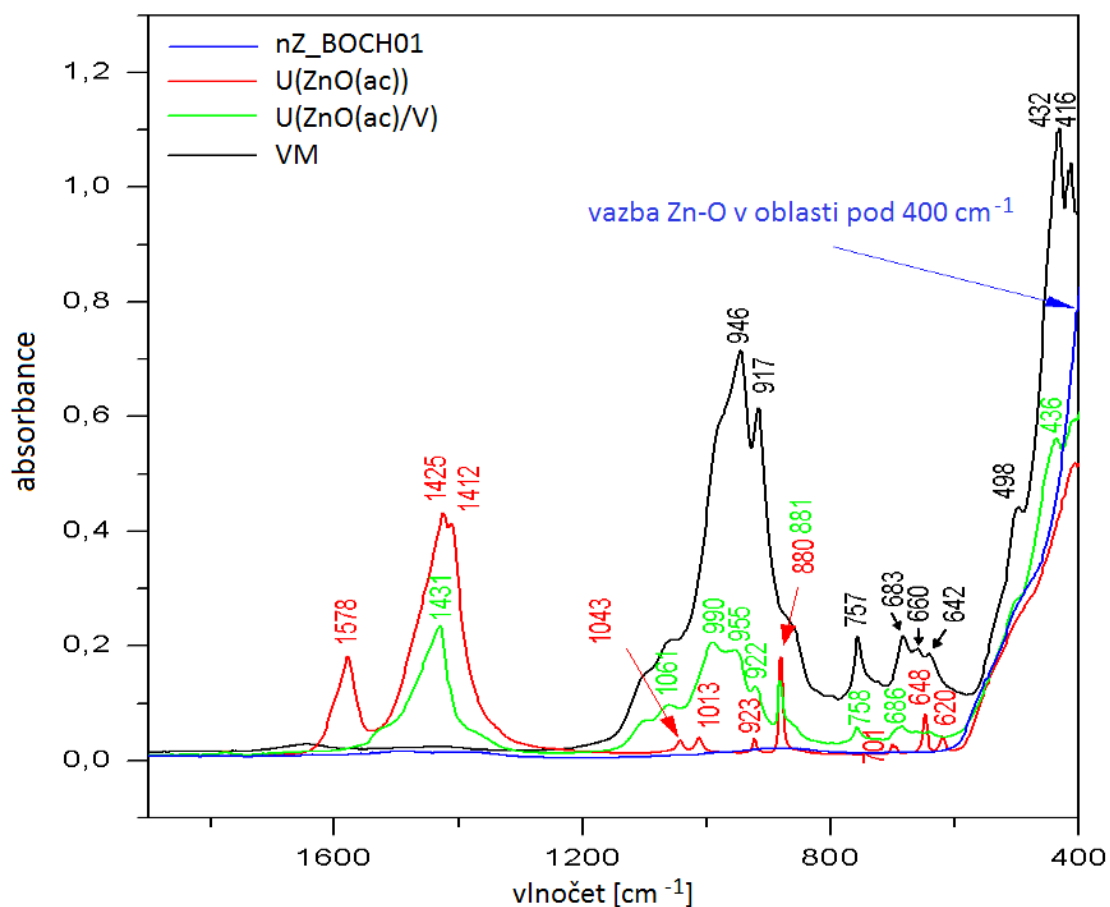
Tabulka 13: Procentuální obsah jednotlivých prvků v IPM suspenzích.

Prvek	Obsah jednotlivých prvků [hm. %]					
	nZ_BOCH01 _IPM	nZ_BOCH03 _IPM	U(ZnO(ac)) _IPM	U(ZnO(ac)/V) _IPM	VM _IPM	IPM
Mg	0,021	0,017	0,011	1,834	3,552	0,025
Al	0,010	0,003	0,008	0,476	0,843	0,008
Si	0,013	-	0,007	2,854	5,824	0,018
P	-	-	-	0,006	0,013	-
S	0,002	-	0,004	0,005	0,008	-
Cl	0,011	0,005	0,006	0,004	0,003	-
K	-	-	-	0,159	0,320	-
Ca	0,003	0,006	0,003	0,884	1,881	-
Cr	-	-	-	0,010	0,020	-
Fe	-	-	-	0,375	0,998	-
Zn	11,330	11,780	7,385	9,203	0,063	-
Ba	-	-	0,002	0,115	0,210	-

Podle výsledků XRFS (tabulka 13) má nejvyšší obsah zinku suspenze nZ_BOCH03_IPM. Suspenze nZ_BOCH01_IPM má menší obsah zinku a suspenze U(ZnO(ac)/V)_IPM má podstatně nižší obsah zinku. Tyto výsledky potvrzuje výsledky XRFS nanoplňiv s podobným trendem. Ovšem u suspenze U(ZnO(ac)/V)_IPM je nečekané, že má vyšší procentuální obsah Zn nežli suspenze U(ZnO(ac))_IPM bez vermikulitu. Tento výsledek může být opět způsoben zkreslením vycházející z prvkového omezení metody. Sledovány jsou proto hlavně obsahy jednotlivých prvků ve vermikulitu. Výsledky jsou využity pro popis výsledků infračervené spektroskopie a rentgenové difrakčních analýzy. IPM byl o vysoké čistotě.

2.2.6 Infračervená spektrometrie s Furierovou transformací

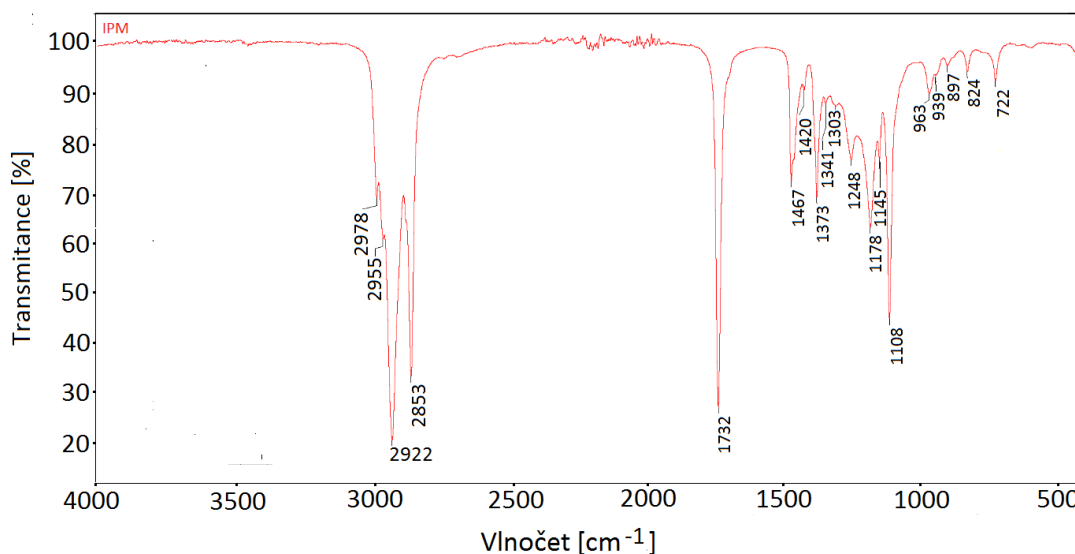
Pro měření spekter práškových nanoplňiv byla použita infračervená spektrometrie s Furierovou transformací (FTIR) Niolet is50 za pomoci techniky ATR na jednodrazovém diamantovém krystalu (rozlišení 4 cm^{-1}). Pro měření suspenzí byla použita infračervená spektrometrie s Furierovou transformací (FTIR) Nicolet 6700 FT-IR (Thermo Scientific) s diamantovým ATR nástavcem. Spektrum bylo snímáno 64 skeny (1 sken za sekundu). Naměřená spektra v rozsahu $4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$, byla upravena v softwaru OMNIC. Provedena byla ATR korekce, bylo upraveno pozadí („baselina“) a byly označeny pozice jednotlivých pásů. Výsledky měření nanoplňiv byly shrnuty do jednoho obrázku, pro jejich přehledné porovnání (Obr. 15). Kvůli větší složitosti infračervených spekter suspenzí jsou uvedena zvlášť (Obr. 16–21). Suspenze byly naměřeny s pozadím vzduchu.



Obr. 15: Srovnání infračervených spekter nanoplňiv.

Zobrazena je pouze oblast vlnočtu pod 1900 cm^{-1} , jelikož při vyšších vlnočtech se nevyskytoval žádný význačný pás. Spektrum nanoplniva nZ_BOCH01 mělo pouze význačný pás v oblasti vlnočtu pod 400 cm^{-1} charakteristický pro vibrace vazby Zn-O. Stejný průběh mělo spektrum nanoplniva nZ_BOCH03, proto nebylo v grafu uvedeno. U nanoplniva U(ZnO(ac)) se vyskytovaly pásy odpovídající přítomnosti Na_2CO_3 a to na pozicích 1425 , 648 a 880 cm^{-1} . Pás 880 cm^{-1} odpovídá mimorovinné deformační vibraci C-O [59]. Objevují se zde také pásy na pozicích 1578 , 1412 , 1043 , 1013 , 701 a 620 cm^{-1} , které poukazují na přítomnost acetátové soli [60]. Pás 1578 cm^{-1} odpovídá asymetrickému protahování, pás 1412 cm^{-1} CH_2 deformační vazbě, pás 1043 cm^{-1} asymetrické valenční vibraci vazby C-C a pás 622 cm^{-1} mimorovinné deformační vibraci skupiny COO [61]. Vermikulit má charakteristické pásy 946 , 917 , 757 , 683 , 660 , 642 , 498 , 432 , 416 cm^{-1} . Deformační vibrace Al-OH označuje pás 946 a 917 cm^{-1} . Přítomnost vazby Si-O potvrzují pásy 757 a 683 cm^{-1} . 642 cm^{-1} je dán překryvem Si-O a Al-O mimorovinných vibrací. Pásy 416 a 432 cm^{-1} odpovídají valenčním vibracím Si-O-M, kde M je pozice Si, Mg, Al, Fe [52]. Nanoplnivo U(ZnO(ac))/V obsahoval mírně posunuté charakteristické pásy ZnO, vermikulitu (955 , 922 , 758 , 686 a 436 cm^{-1}) a acetátové soli (1431 , 1061 a 990 cm^{-1}) a uhličitanu sodného (880 cm^{-1}).

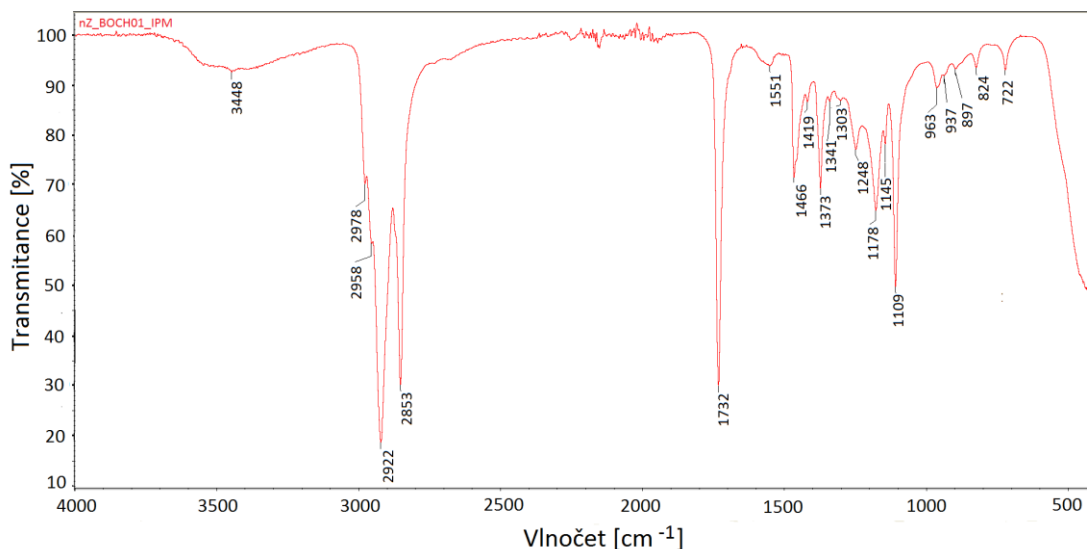
Suspenze byly připraveny vždy z isopropylmyristátu a jednotlivých nanoplniv, je tedy nutné nejprve určit pásy jednotlivých funkčních skupin isopropylmyristátu. Sumární vzorec isopropylmyristátu je $\text{C}_{17}\text{H}_{34}\text{O}_2$ (strukturní vzorec viz. teoretická část kap. 1.2.2).



Obr. 16: Infračervené spektrum isopropylmyristátu.

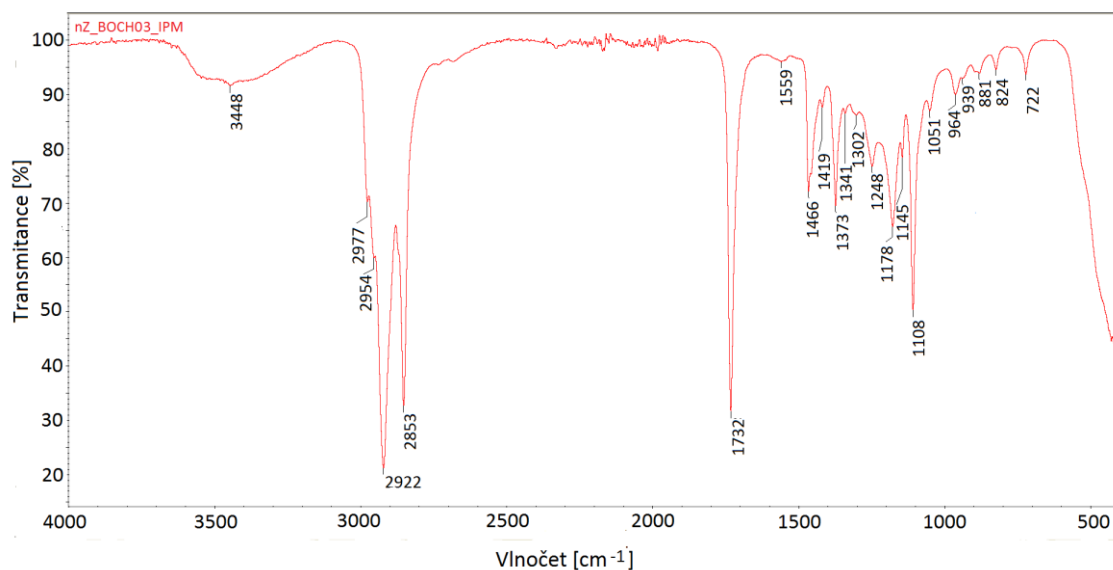
Spektrum isopropylmyristátu (Obr. 16) obsahuje všechny charakteristické pásy pro tuto sloučeninu [62]. Nejvýznačnější pásy odpovídají symetrickým a asymetrickým valenčním vibracím -CH_2 skupiny (2922 a 2853 cm^{-1}), kdy pásy odpovídající přítomnosti symetrickým a asymetrickým valenčním vibracím -CH_3 skupiny jsou těmito pásy překryty a jsou patrné jen jako drobná raménka nalepená na těchto pásech. Velmi intenzivní pás na pozici 1732 cm^{-1} odpovídá vazbě C=O , který potvrzuje přítomnost esteru. Ester je také potvrzen vazbou C-O na pozicích 1178 , 1108 , 722 a 824 cm^{-1} . Nejvýznačnější vibrace odpovídající deformačním vibracím C-H vazeb v páteřním řetězci jsou na pozicích 1457 a 1373 cm^{-1} [63].

Spektrum suspenze nZ_BOCH01_IPM (Obr. 17) obsahuje stejné pásy (s minimálním posunem pozic těchto pásů) jako spektrum původního IPM (Obr. Xipm). Oproti původnímu spektru se zde objevují pásy na pozici 3448 a 1551 cm^{-1} , které odpovídají přítomnosti O-H vazby, což může být způsobeno vlhkostí vzorku, či přítomností vazeb O-H v polyhydroxystearové kyselině, která se ve vzorku v malém množství vyskytuje. Oproti původnímu spektru IPM je zde také patrná změna tvaru spektra v oblasti pod 600 cm^{-1} , která odpovídá tvaru spektra ZnO [64].



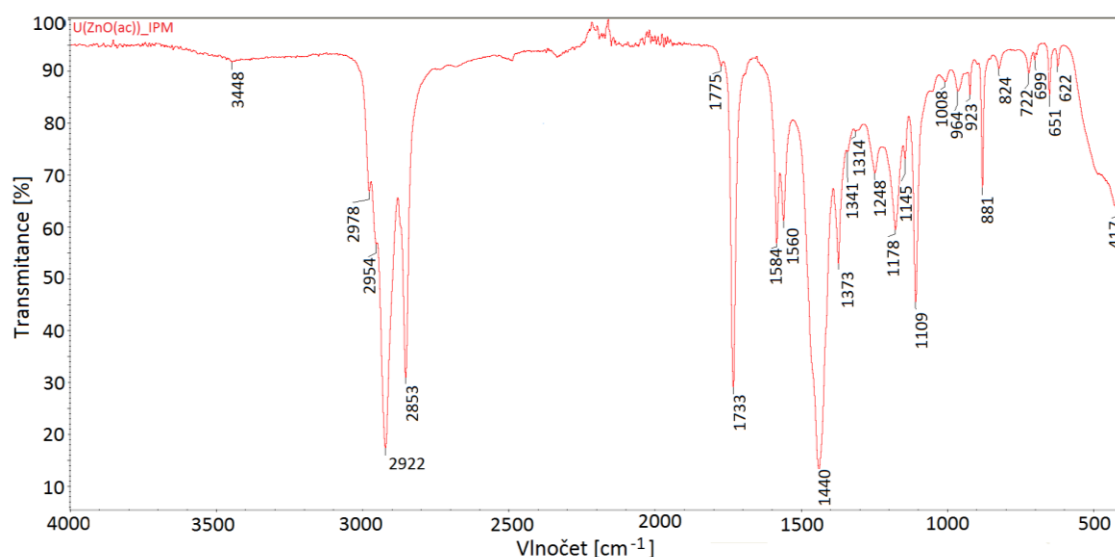
Obr. 17: Infračervené spektrum suspenze nZ_BOCH01_IPM.

Suspenze nZ_BOCH03_IPM (Obr. 18) má velice podobné spektrum jako suspenze nZ_BOCH01_IPM s mírně posunutými některými polohami pásů. Navíc se ve spektru nZ_BOCH03_IPM vyskytují dva pásy. Oba pásy odpovídají přítomnosti -OH skupiny, kdy první pás (1051 cm^{-1}) pravděpodobně odpovídá vazbě C-OH a druhý pás (881 cm^{-1}) odpovídá mimorovinné deformační vibraci O-H. Tyto pásy naznačují na přítomnost polyhydroxystearové kyseliny, která by se měla v suspenzi v malém množství vyskytovat. Přestože v obou vzorcích je stejný obsah této kyseliny, v případě suspenze nZ_BOCH03_IPM se projevily navíc dva pásy, které mohou být přiřazeny také polyhydroxystearové kyselině. Tyto dva pásy jsou také přítomny i ve vzorku nZ_BOCH01_IPM, kde se tak významně neprojevily. To může být způsobeno aglomerací vzorku nZ_BOCH01_IPM, kdy jsou molekuly polyhydroxystearové kyseliny obaleny dalšími částicemi. Infračervené záření proto neproniklo do takové hloubky, tak aby byly pásy znatelné ve spektru. Patrný tvar spektra pod 600 cm^{-1} naznačuje přítomnost ZnO ve vzorku.



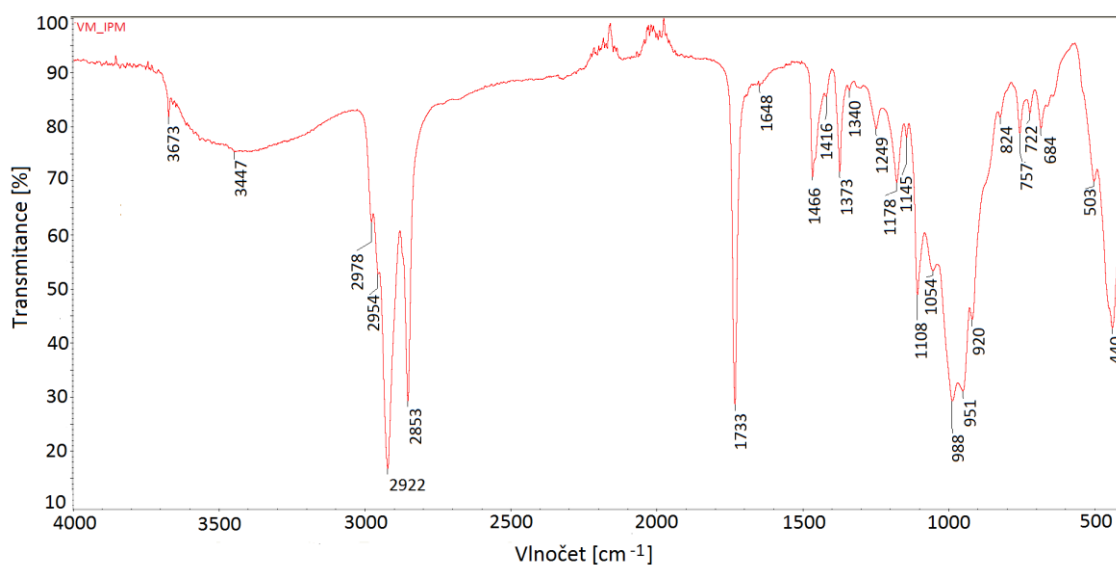
Obr. 18: Infračervené spektrum suspenze nZ_BOCH03_IPM.

Infračervené spektrum suspenze U(ZnO(ac))_IPM (Obr. 19) obsahuje opět pásy IPM, ale také pásy odpovídající přítomnosti Na_2CO_3 a to na pozicích 1775, 1440, 651 a 881 cm^{-1} [59]. Objevují se zde také pásy na pozicích 1584, 1560, 1008, 699 a 622 cm^{-1} , které naznačují na přítomnost acetátové soli [60]. Přítomnost uhličitanu a acetátové soli je dána přípravou vzorku. Tvar spektra pod 600 cm^{-1} je narušen přítomností pásů popsaných výše, ale stále je patrný charakteristický tvar.



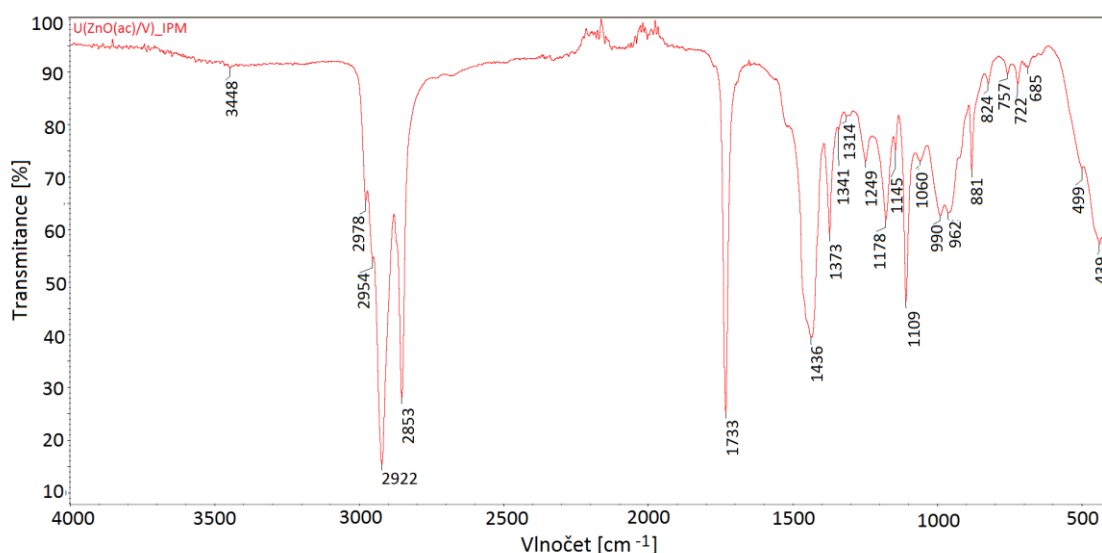
Obr. 19: Infračervené spektrum suspenze U(ZnO(ac))_IPM.

Spektrum vzorku VM_IPM je ukázáno na Obr. 20 a jedná se o mix pásu odpovídající IPM (viz. Obr. 16) a vermikulitu. Pás 3673 cm^{-1} odpovídá hydroxylovým funkčním skupinám obsažených ve struktuře a pásy 3447 a 1648 cm^{-1} odpovídají hydroxylovým skupinám mezivrstevné vlhkosti. Vibrace vazeb Si-O-Si a Si-O-Al v tetraedrech mají polohu pásů v oblasti vlnočtu 1054 cm^{-1} a valenční vazba mezi atomy Si-O-Al má charakteristický pás 503 cm^{-1} . Přítomnost vazby Si-O také potvrzují pásy 757 a 684 cm^{-1} . Deformační vibrace Al-OH označuje pás 951 cm^{-1} .



Obr. 20: Infračervené spektrum suspenze VM_IPM.

V suspenzi U(ZnO(ac)/V)_IPM (Obr. 21) je obsažen jak vermikulit, tak i oxid zinečnatý. Spektrum je složeno z pásů odpovídajících přítomnosti IPM, VM a Na_2CO_3 . Jednotlivé pásy jsou popsány v předcházejících odstavcích.



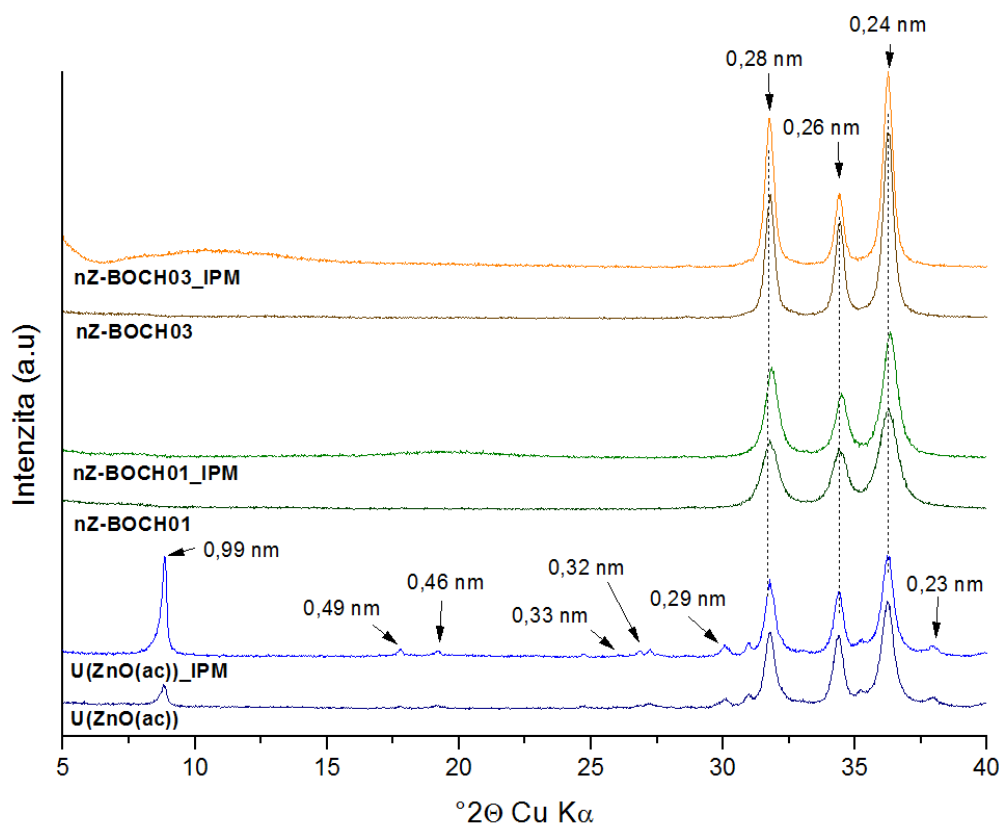
Obr. 21: Infračervené spektrum suspenze U(ZnO(ac)/V)_IPM.

Všechna spektra byla měřena s pozadím „vzduch“. Všechny vzorky byly také změřeny s pozadím „IPM“, ale bohužel softwarový odečet rozpouštědla nebyl dokonalý a více informací bylo obdrženo právě při použití pozadí „vzduch“.

Výsledná spektra odpovídala vždy kombinaci jednotlivých složek v suspenzích. Vzorky nZ_BOCH01_IPM a nZ_BOCH03_IPM obsahovaly pouze pásy odpovídající charakteristickým pásům IPM, ZnO a polyhydroxystearové kyselině. U vzorku U(ZnO(ac))_IPM, byl potvrzen výskyt acetátu sodného a v malé míře i uhličitanu sodného, které byly použity pro přípravu nanoplňiva U(ZnO(ac)). U suspenze U(ZnO(ac)/V)_IPM byl potvrzen pouze výskyt uhličitanu sodného, přestože příprava byla stejná, obsah acetátové soli ve vzorcích byl rozdílný. Při přípravě nanokompozitního materiálu ZnO/vermikulit (U(ZnO(ac)/V) došlo k lepšímu odstranění vzniklého acetátu sodného.

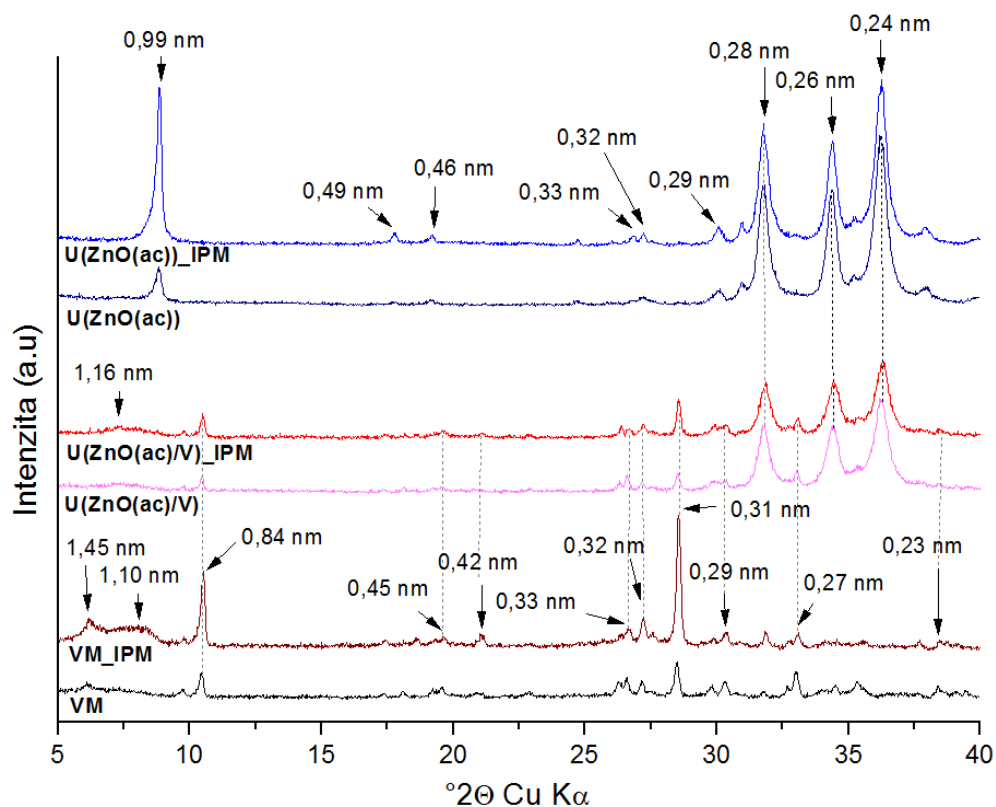
2.2.7 Rentgenová difrakční analýza

Pro fázovou analýzu připravených experimentálních vzorků byl použit rentgenový práškový difrakční analyzátor Rigaku Ultima IV v Bragg-Brentanovém uspořádání. Měření bylo provedeno za použití Cu-lampy a K-beta filtru. Analyzované práškové nanoplňiva a suspenze byly nanесeny na sklíčko s prohlubní a měřeny při konstantních podmínkách 40 kV, 40 mA, rozsahu 5–40° 2θ a rychlosti měření 4 °/min.



Obr. 22: Srovnání rentgenových difrakčních záznamů práškových vzorků a k nim příslušejících suspenzí obsahujících nanočástice oxidu zinečnatého.

Na Obr. 22 jde vidět porovnání difrakčních záznamů práškových vzorků nanočástic oxidu zinečnatého a suspenzí obsahujících příslušné nanoplnivo oxidu zinečnatého. Píky charakterizující oxid zinečnatý jsou $d(100) = 0,28 \text{ nm}$, $d(002) = 0,26 \text{ nm}$ a $d(101) = 0,24 \text{ nm}$. Práškové vzorky nZ_BOCH01 a nZ_BOCH03 vykazují vysokou čistotu a neobsahují v měřené oblasti žádné význačné píky jiných krystalických fází. U suspenzí (nZ_BOCH01_IPM a nZ_BOCH03_IPM) příslušejících k těmto práškovým vzorkům nedochází k výrazným změnám. Pozorovat lze pouze mírný nárůst křivky v oblasti $7\text{--}13^\circ 2\theta$ u vzorku nZ_BOCH03_IPM, kdy došlo k vytvoření amorfni fáze IPM se ZnO. Práškový vzorek U(ZnO(ac)) měl nižší čistotu a obsahoval píky příslušející acetátu sodnému ($0,99 \text{ nm}$, $0,49 \text{ nm}$, $0,46 \text{ nm}$, $0,33 \text{ nm}$ a $0,32 \text{ nm}$) a uhličitanu sodnému ($0,29 \text{ nm}$ a $0,23 \text{ nm}$). U suspenze U(ZnO(ac))_IPM oproti práškovému vzorku došlo k podstatnému navýšení intenzity píku $d(010) = 0,99 \text{ nm}$, IPM způsobil zvětšení krystalitů acetátu sodného.



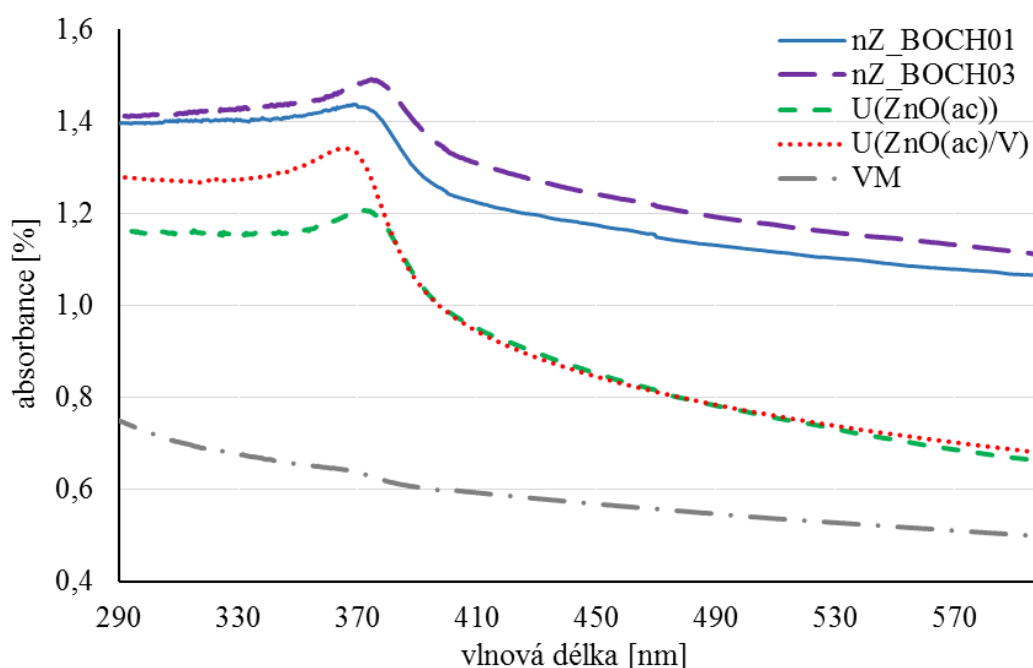
Obr. 23: Srovnání rentgenových difrakčních záznamů práškových vzorků (vermikulitu a sonochemicky připravených vzorků) a k nim příslušejících suspenzí.

Obr. 23 porovnává rentgenové difrakční záznamy práškových vzorků (vermikulitu, U(ZnO(ac)) a U(ZnO(ac)/V)) s příslušejícími suspenzemi. Pro vermikulit jsou charakteristické píky 1,45 nm, 0,45 nm, 0,42 nm, 0,33 nm, 0,31 nm, 0,28 nm a 0,23 nm. Pík $d(002) = 1,45$ nm odpovídá hydratované struktuře. Píky 0,84 nm, 0,32 nm a 0,27 nm jsou význačné pro příměs tremolitu, což vysvětluje výskyt vápníku ve výsledcích rentgenové fluorescenční analýzy (viz. kapitola 2.2.5) u práškového vzorku vermikulitu a vzorků s vermikulitem. U suspenze VM_IPM došlo k vytvoření nové fáze oproti čistému vermikulitu v oblasti kolem píku 1,1 nm. Tato oblast je dána amorfním charakterem isopropylmyristátu, který se částečně interkaloval do mezivrstev vermikulitu a zároveň způsobil delaminaci vermikulitu. Vzorek U(ZnO(ac)/V) obsahuje oproti vermikulitu (VM) navíc píky charakteristické pro ZnO a došlo k vymizení píku 1,45 nm charakteristického pro hydratovanou strukturu vermikulitu. Tedy při teplotě kalcinace 350 °C došlo k dehydrataci struktury vermikulitu. U suspenze

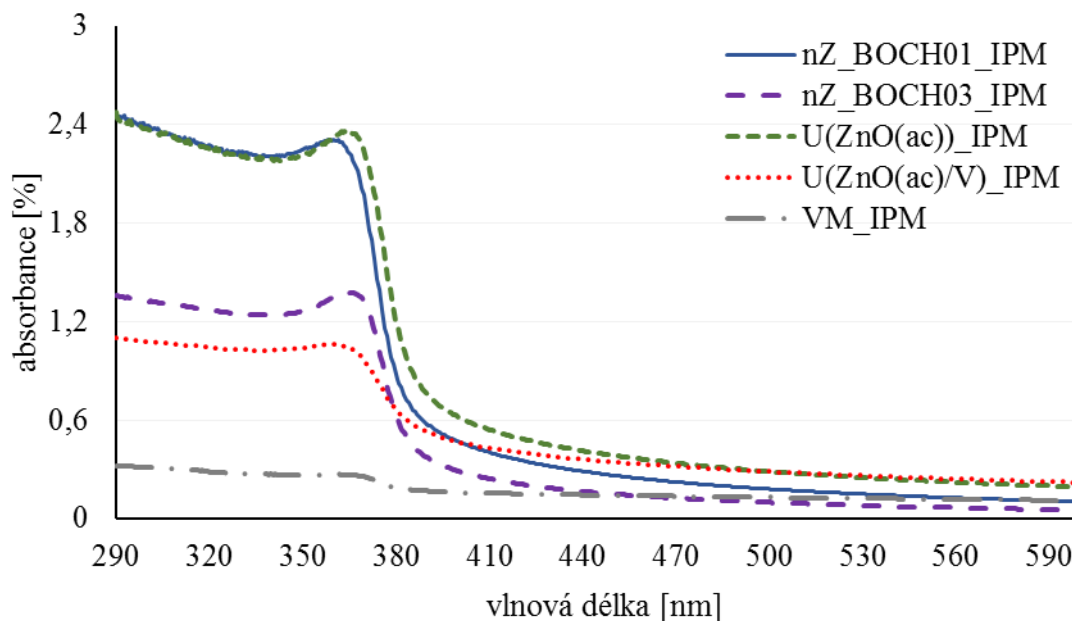
U(ZnO(ac)/V)_IPM oproti VM_IPM byl zaznamenán posun píku 1,1 nm na hodnotu 1,16 nm, tento posun je přisuzován částečné interkalaci ZnO do mezivrství vermikulitu. Interkalace IPM do mezivrství vermikulitu byla minimální. U vzorku U(ZnO(ac)/V) se nevyskytují význačné píky acetátu sodného, na rozdíl od vzorku U(ZnO(ac)), došlo tedy u něj k lepšímu vymytí při jeho přípravě.

2.2.8 UV-VIS spektrofotometrie

Pro měření UV-VIS spektra byl použit jednopaprskový spektrofotometr Specord 50 Plus od firmy Analytik Jena. Výhoda jednopaprskového spektrofotometru je využití většiny záření pro průchod vzorkem. Vzorky byly dispergovány ve vodě a měřeny v kyvetě (z křemíkového skla). Ředění bylo zvoleno tak, aby bylo možné vzorky změřit, proto byl sledován hlavně posun absorpčního maxima a ne intenzita absorpce. Pro měření suspenzí byl použit jako pozadí isopopylmyristát a u práškových vzorků byla použita voda. Rychlost měření byla 20 nm/s, měřicí krok byl 0,5 nm a rozsah 190–600 nm. Měření suspenzí i práškových nanoplniv bylo prováděno třikrát. Výsledky jsou uvedeny na Obr. 24 a 25.



Obr. 24: UV/VIS absorpční spektra nanoplniv.



Obr. 25: UV/VIS absorpční spektra jednotlivých IPM suspenzí.

Za předpokladu, že v opalovacích přípravcích je žádaná schopnost absorbovat v UVA (400–320 nm) i UVB (320–290 nm) oblasti, je možné z poloh absorpčních maxim tvrdit, že nejvhodnější by měla být suspenze U(ZnO(ac))_IPM s hodnotou maxima absorpce při 365 nm. Dále je pak vhodný vzorek nZ_BOCH03_IPM, jenž má jen o mírně posunutou hodnotu absorpčního maxima směrem k nižším vlnovým délkám (Obr. 25). Podle výše zmíněnému požadavku lze tvrdit, že v rámci práškových nanoplňiv je nejvhodnější pro použití do opalovacího krému nanoplňivo nZ_BOCH03. Jako druhý nejvhodnější se pak jeví U(ZnO(ac)).

Ostatní hodnoty vlnových délek absorpčních maxim jednotlivých suspenzí a nanoplňiv okolo oblasti 370 nm jsou uvedeny v tabulce 14. Při srovnání lze obecně vypořizovat posun absorpčních maxim u suspenzí směrem k nižším vlnovým délkám. Toto by se dalo považovat za nežádoucí jev. U suspenze VM_IPM i plňiva V byl pozorován náznak absorpčního maxima v oblasti okolo 369 nm, což bylo pravděpodobně způsobeno špatným vymytím kyvety, neboť toto maximum by nemělo být u vermikulitu pozorováno.

Tabulka 14: Srovnání absorpčních maxim v okolo 370 nm nanoplniv a IPM/nanoplnivo suspenzí.

Nanoplnivo	Vlnová délka absorpčního maxima [nm]	
	Nanoplnivo	IPM suspenze s nanoplnivem
nZ_BOCH01	368,5	361,5
nZ_BOCH03	374,5	364,5
U(ZnO(ac))	372,5	365,0
U(ZnO(ac)/V)	365,0	360,0
VM_IPM	369,5	368,0

2.3 Sledování stability v závislosti na čase a působení světlo/tma

Sledování stability IPM suspenzí bylo realizováno s využitím přístroje HORIBA SZ100 Nanopartica. Změna v časové ose byla sledována na průměrné velikosti částic (Tabulka 15) d_{50} a Zeta potenciálu (ξ -potenciál) IPM suspenzí. Za účelem analýzy distribuce velikosti částic bylo použito 0,5 ml IPM/nanoplnivo suspenze. Měření probíhalo ve skleněné kyvetě při teplotě 24,8–25 °C a každé měření bylo opakováno 6x. Jednotlivé výsledky jsou uvedeny v tabulce 15. ξ -potenciál IPM/nanoplnivo suspenzí byl měřen ve speciální kyvetě s grafitovými elektrodami s napětím na elektrodách 3,3–3,9 V, při teplotě 24,8–25 °C. Každé měření ξ -potenciálu bylo opakováno 4x. U měření Zeta potenciálu byl sledován vliv světla (Tabulka 16). Vzorky byly po celou dobu uchovávány v krabici ve tmě. Pro sledování vlivu světla byly vzorky 26. 4. vystaveny působení nepřímému slunečnímu záření po dobu tří dnů.

Tabulka 15: Průměrná velikost částic nanoplniv a suspenzí IPM/nanoplnivo v časové ose.

Nanoplnivo	Průměrná velikost částic d_{50} [μm]		
	Nanoplnivo	Suspenze IPM/nanoplnivo	
	19.3.	11.1.	29.4.
nZ_BOCH01	5,01	$3,1 \pm 0,3$	$2,8 \pm 0,3$
nZ_BOCH03	2,38	$3,9 \pm 2,2$	$4,0 \pm 0,9$
U(ZnO(ac))	2,35	$2,3 \pm 0,1$	$3,5 \pm 2,2$
U(ZnO(ac)/V)	2,72	$19,4 \pm 0,9$	$24,9 \pm 2,4$
VM	1,56	$22,1 \pm 2,1$	$23,9 \pm 0,5$

Velikost částic nanoplniv je použita z měření distribuce velikosti částic (viz. kapitola 2.2.5) a srovnána s hodnotami velikosti částic suspenzí. Nanoplnivo nZ_BOCH01 vykazovalo po zamíchání do isopropylmyristátu snížení průměrné velikosti částic. To je dáno rozbitím velkých aglomerátů nanoplniva ($d_{50} = 5,01 \mu\text{m}$) při přípravě suspenze v mlýnu RL. U suspenze nZ_BOCH01_IPM došlo po uplynutí přibližně patnácti týdnů (doba 11. 1. – 29. 4.) ke snížení průměrné velikosti částic. S časem tedy nedochází k aglomeraci částic v IPM suspenzi. U nanoplniva nZ_BOCH03 došlo zamícháním do IPM ke zvětšení průměrné velikosti částic a k jejich větší aglomeraci. V průběhu času (cca 15 týdnů) se zdá být suspenze z hlediska velikosti částic stabilní, neboť průměrná velikost částic se jen mírně zvýšila. Zvýšení je však v rámci chyby měření. Zamíchání nanoplniva U(ZnO(ac)) do IPM nemělo výrazný vliv na průměrnou velikost částic, pouze je možné vysledovat zvýšení průměrné velikosti částic suspenze U(ZnO(ac))_IPM v průběhu času (přibližně 15 týdnů). Suspenze se tedy jeví z hlediska velikosti částic nestabilní, ale zahrnutí chyby měření vypovídá o nepřesnosti měření a stabilitu je tedy nutné hodnotit spíše z výsledků Zeta potenciálu.

Vzorek U(ZnO(ac)/V) po zamíchání do IPM podstatně změnil průměrnou velikost částic. Zvýšení velikosti částic je přikládáno přítomnosti vermikulitu, jenž měl v IPM tendenci se shlukovat a usazovat na dně nádob. Z toho plyne předpoklad, že nedošlo k důkladné homogenizaci a promíchání IPM s nanoplnivem za vzniku stabilní suspenze.

S časem se průměrná velikost částic zvětšovala a docházelo k dalšímu postupnému usazování vermikulitu. Vermikulit (VM), přestože byl rozemlet na drobné částice o průměrné velikosti $d_{50} = 1,56 \mu\text{m}$, měl stejnou tendenci tvořit vermikulitové shluky a usazovat se na dně nádob jako suspenze U(ZnO(ac)/V)_IPM. Tento trend byl potvrzen zvýšením průměrné velikosti částic suspenze VM_IPM v průběhu času (cca 15 týdnů). U obou suspenzí obsahujících vermikulit (U(ZnO(ac)/V)_IPM a VM_IPM) bylo pozorováno, že při delším stání došlo k usazení vermikulitu na dně nádoby, kdy usazený vermikulit byl suchý a neobsahoval IPM.

Zeta-potenciál je definován potenciálem mezi nejvzdálenější nepohyblivou vrstvou kapaliny, která obklopuje částici, a vzdáleným objemem kapaliny. Hodnota Zeta potenciálu určuje míru interakce částic. Při vysokých hodnotách, když je absolutní hodnota potenciálu větší než 30 mV, se částice vzájemně silně odpuzují, systém je stabilní a nevytváří se shluky. Malé hodnoty Zeta potenciálu jsou význačné pro nestabilní systémy s širokým rozdělením velikosti částic, které se shlukují do agregátů různé velikosti. Nestabilní částice mají hodnoty potenciálu v rozmezí -30–30 mV [65].

Tabulka 16: Zeta potenciál nanoplniv a IPM/nanoplnivo suspenzí v časové ose.

Nanoplnivo	Zeta potenciál [mV]					
	Nanoplnivo	Suspenze IPM/nanoplnivo				
	19.3. tma	11.1. tma	19.3. tma	26.4 tma	29.4. tma	29.4. světlo
nZ_BOCH01	+41,5 ± 1,8	+54,8 ± 2,8	+52,5 ± 2,2	+50,5 ± 3,4	+49,3 ± 4,0	+51,3 ± 2,6
nZ_BOCH03	+17,6 ± 2,1	+29,0 ± 1,9	+32,4 ± 3,5	+31,3 ± 2,6	+33,1 ± 4,9	+30,5 ± 2,2
U(ZnO(ac))	-25,4 ± 1,3	-47,8 ± 3,3	-46,3 ± 2,2	-45,2 ± 5,8	-51,4 ± 2,3	-49,6 ± 3,9
U(ZnO(ac)/V)	-25,4 ± 1,3	-21,1 ± 3,1	-24,1 ± 2,9	-24,5 ± 3,2	-23,9 ± 6,1	-19,4 ± 4,2
VM	-18,3 ± 0,3	-15,2 ± 4,0	-19,9 ± 3,8	-20,3 ± 2,4	-20,3 ± 2,4	-18,7 ± 5,4

Při zahrnutí chyby měření se dá konstatovat, že vystavení nepřímému slunečnímu záření po dobu tří dnů nemělo vliv na stabilitu suspenzí. Nanoplnivo nZ_BOCH01 se dá považovat za stabilní před i po zamíchání do IPM. Zamícháním do IPM stabilita vzrostla a s postupem času sice klesají hodnoty Zeta potenciálu, ale přesto je vzorek i po cca patnácti týdnech stále stabilní, nemá tendenci tvořit v suspenzi shluky částic. Nanoplnivo nZ_BOCH03 je nestabilní a má tendenci vytvářet shluky částic. Po zamíchání nanoplniva do IPM došlo ke zlepšení stability. V průběhu času se dá považovat za stabilní, i když jsou hodnoty Zeta potenciálu blízko hranici nestability. Nanoplnivo U(ZnO(ac)) s hodnotou Zeta potenciálu -25,4 mV se nedá považovat za stabilní. Jeho IPM suspenze (U(ZnO(ac))_IPM) by podle hodnot Zeta potenciálu měla být stabilní, přestože při měření velikosti částic v čase, byl zjištěn nárůst průměrné velikosti částic.

Nanoplniva U(ZnO(ac)/V) a VM měly hodnoty Zeta potenciálu vždy v rozmezí -30–30 mV. Tyto nanoplniva byla nestabilní s tendencí aglomerovat. Po jejich zamíchání do IPM byly hodnoty Zeta potenciálu stále v rozmezí hodnot

charakteristických pro nestabilní materiály. Tvrzení o nestabilitě suspenzí je v souladu s výsledky měření průměrné velikosti částic, která po době cca patnácti týdnů vzrostla.

2.4 Testy toxicity

Pro testování práškových nanoplniv a připravených suspenzí byl zvolen postup založený na určení schopnosti materiálů indukovat oxidativní stres cestou peroxidace lipidů. Při rozkladu ZnO na ionty mohou buňku poškozovat přímo kationty Zn^{2+} nebo následně uvolněné kyslíkové radikály. V tomto testu je sledován vliv kyslíkových radikálů na lipidy, které jsou spolu s proteiny základními stavebními složkami buněčných membrán. Peroxidace lipidů probíhá zejména na polynenasycených mastných kyselinách obsahujících dvojné vazby, ty jsou náchylné k peroxidaci. Tento proces vede k poškození membrán buněk. Příkladem polynenasycených mastných kyselin s dvojnými vazbami jsou kyselina linolová, linolenová a arachidonová. Pro test byla zvolena kyselina linolová jako modelová molekula.

Test byl prováděn v tripletu tak, aby byl eliminován vliv hrubé chyby na výsledky. Jako negativní kontrola byla použita micelární disperze kyseliny linolové bez přídavku vzorku. Pro pozitivní kontrolu je podstatné, aby měla známé toxické účinky na organismus a aby převyšovala svou absorbancí veškeré experimentální vzorky. To splňuje oxid titaničitý (TiO_2 , Sigma Aldrich) s průměrnou velikostí částic 21 nm. Tento standard (pozitivní kontrola) byl rovněž použit v publikaci Corazzari a kol. [66], která byla základem pro zavedení a optimalizaci postupu.

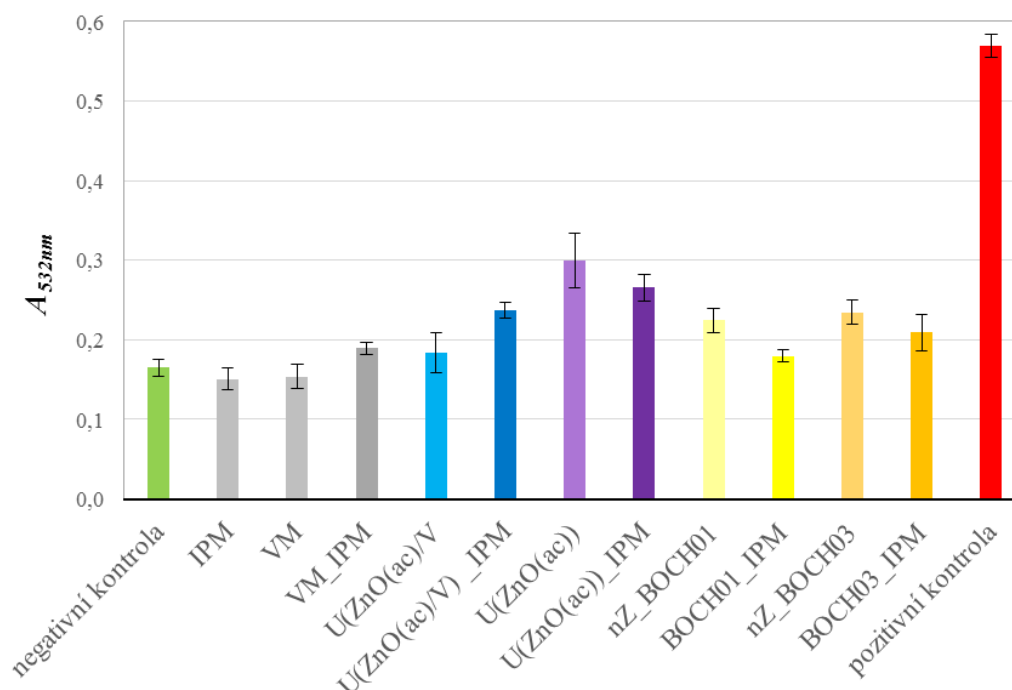
Suspenze a nanoplniva byla navážena do zkumavek kónického tvaru tak, aby bylo zachováno stejné množství ZnO (0,03 g) a pro vzorky neobsahující ZnO byla navážka shodná s navážkou pozitivní kontroly. Pozitivní kontrola měla navážku 0,03 g. Do všech zkumavek byly přidány 3 ml pufrované (0,01 M fosfátový pufr, pH 7,4) micelární disperze kyseliny linolové (0,001 M), která obsahovala 2,5 hm. % ethanolu. Zkumavky byly uzavřeny vršky, utěsněny parafilmem a pro dokonalé rozmíchání testovaného materiálu vortexovány cca 5 s (IKA VORTEX GENIUS 3). Takto připravené vzorky byly vloženy do inkubátoru (NB 205, N-BIOTEX) na dobu 72 hod s kontinuálním mícháním (200 otáček/min) a teplotou 37 °C. Inkubátor byl ozařován

lampou (žárovka ReptiGlo 5.0 Compact, 26 W). Po uplynutí inkubace bylo do všech zkumavek připipetováno 0,1 ml butylhydroxytoluenu (0,2 hm. %) pro zastavení reakce. Po krátkém vortexování bylo z každého roztoku odpipetováno 1,5 ml do eppendorffových centrifugačních zkumavek a ty vloženy do centrifugy (MIKRO 120, Hettrich Zentrifugen) a centrifugovány po 30 minut při 12000 otáčkách za minutu. Po odstředění byl vždy 1 ml supernatantu převeden do skleněných zkumavek a přidáno 2 ml roztoku kyseliny thiobarbiturové (0,034 M) rozpuštěné ve směsi HCl (0,25 M) a kyseliny trichloroctové (0,92 M). Zkumavky zakryté alobalem byly vařeny ve vodní lázni při teplotě 90–100 °C po dobu 30 min (míchačka s termostatem IKA C-MAG HS7, digitální teploměr IKA ETS-D5). Varem roztoky zrudověly (s různou intenzitou zbarvení) vlivem vzniku komplexu malondialdehyd – kyselina thiobarbiturová. Po zchlazení roztoků ve zkumavkách bylo do každé přidáno vždy 3 ml 1-butanolu. Roztoky byly vortexovány cca 10 s tak, aby byl barevný komplex vyextrahován z vodné do organické fáze. Po oddělení fází byla vždy horní růžová organická fáze odebrána pomocí kapátek do ampulek následně byla analyzována spektrofotometrem (CINTRA 303).

Jako zdroj záření byla použita wolframová lampa. Světlo použité k ozařování bylo rozděleno na vlnové délky pomocí monochromátoru. Vzorek se postupně ozařoval monochromatickým zářením určitých vlnových délek, které se ve vzorku absorbují v závislosti na typu látek přítomných ve vzorku. Pro měření byl použit dvoupaprskový spektrofotometr s děličem paprsků. Záření je rozděleno do dvou paprsků, kdy jeden prochází srovnávací kyvetou obsahující rozpouštědlo (1-butanol) a druhý paprsek prochází kyvetou s měřeným vzorkem v rozpouštědle. Prošlé záření se měří pomocí detektorů. Detekované záření je přeměněno na elektrický signál. Získaná spektra se od sebe odčítají za získání výsledného spektra a určení absorpce. Sledována byla absorbance při vlnové délce 532 nm (Tabulka 17).

Tabulka 17: Naměřené hodnoty absorpance A tripletu vzorků při vlnové délce 532 nm, jejich průměrná hodnota A_{532nm} a relativní odchylka δ .

Vzorek	A při vlnové délce 532 nm			A_{532nm}	δ [%]
	1	2	3		
negativní kontrola	0,157	0,158	0,179	0,165	6,19
IPM	0,134	0,150	0,168	0,151	9,39
VM	0,173	0,155	0,134	0,154	10,24
VM_IPM	0,199	0,180	0,188	0,189	4,41
U(ZnO(ac)/V)	0,165	0,219	0,168	0,189	13,59
U(ZnO(ac)/V)_IPM	0,225	0,249	0,236	0,184	4,14
U(ZnO(ac))	0,329	0,251	0,318	0,237	11,45
U(ZnO(ac))_IPM	0,255	0,289	0,253	0,299	6,24
nZ_BOCH01	0,244	0,221	0,208	0,266	6,63
nZ_BOCH01_IPM	0,188	0,181	0,171	0,224	4,09
nZ_BOCH03	0,215	0,236	0,253	0,180	6,64
nZ_BOCH03_IPM	0,188	0,199	0,240	0,234	10,78
pozitivní kontrola	0,590	0,562	0,557	0,209	2,58



Obr. 26: Absorbance experimentálních vzorků naměřené při vlnové délce 532 nm ve srovnání s negativní a pozitivní kontrolou.

Na Obr. 26 je uveden graf závislosti absorbance na typu vzorku. Samotný IPM a VM nevykazují schopnost peroxidace lipidů, protože hodnoty absorbance odpovídají hodnotě naměřené u negativní kontroly. Dá se proto předpokládat, že jejich přítomnost by neměla ovlivnit výslednou toxicitu. Suspenze VM_IPM a U(ZnO(ac)/V)_IPM však vykazovaly mírný nárůst absorbance oproti práškovým vzorkům (VM a U(ZnO(ac)/V)). Nárůst je pravděpodobně způsoben částečnou interkalací IPM do mezivrstev vermikulitu a delaminací vermikulitu. Tyto změny vedly ke zvýšení schopnosti lipoperoxidace suspenzí. Přidáním vermikulitu k nanočásticím ZnO dochází jeho vlivem ke snížení absorbance a toxicity vzorku. Tento trend snížení toxicity po interkalaci ZnO do vermikulitové matrice platil pro práškový vzorek U(ZnO(ac)/V) i jeho IPM suspenzi U(ZnO(ac)/V)_IPM.

Při zhodnocení změn u práškových vzorků obsahujících pouze ZnO (U(ZnO(ac)), nZ_BOCH01 a nZ_BOCH03) a suspenzí s nanoplnivem ZnO (U(ZnO(ac))_IPM, nZ_BOCH01_IPM a nZ_BOCH03_IPM), je patrné snížení absorbancí práškových vzorků po zamíchání do IPM. Zamíchání do IPM má tedy vliv na snížení výsledné toxicity vzorků. Tento trend nebyl pozorován u nanoplniva ZnO s vermikulitem (U(ZnO(ac)/V), neboť zde převážil vliv částečné interkalace IPM do vermikulitu za uvolnění reaktivních forem kyslíku.

Při porovnání absorbancí vzorků obsahujících ZnO bez vermikulitu, má nejvyšší hodnotu absorbance práškový vzorek U(ZnO(ac)), který měl nejmenší tendenci aglomerovat ($d_{50} = 2,35 \mu\text{m}$) z experimentálních vzorků obsahujících ZnO. K vyšší toxicitě však u tohoto vzorku mohla také přispět přítomnost nevymytého acetátu sodného ve vzorku U(ZnO(ac)), jenž sám o sobě má mírné antioxidační účinky. O trochu nižší hodnotu absorbance má IPM suspenze U(ZnO(ac))_IPM. Práškový vzorek nZ_BOCH01 ($d_{50} = 5,00 \mu\text{m}$) měl nižší hodnotu absorbance než nZ_BOCH03 ($d_{50} = 2,88 \mu\text{m}$) a tento trend platil i pro příslušející suspenze. Nejnižší hodnota absorbance u vzorku nZ_BOCH01 je dána velkými aglomeráty zvyšujícími hodnotu střední velikosti částic na $d_{50} = 5,00 \mu\text{m}$. Byla zjištěna závislost na velikosti částic a nanočástic tendenci aglomerovat, ale předpokládaná závislost na velikosti specifického povrchu nebyla potvrzena.

3 Závěr

Cílem diplomové práce byla příprava a charakterizace nanostrukturovaných materiálů na bázi oxidu zinečnatého v olejové suspenzi kosmetické čistoty. Nanočástice oxidu zinečnatého (nZ_BOCH01 a nZ_BOCH03; získané ve spolupráci s Bochemie s.r.o.), sonochemicky připravené nanočástice ZnO a částice nanokompozitu ZnO/vermikulit byly pomocí mlecích technik zamíchány do isopropylmyristátu (IPM) za vzniku olejové suspenze. Nanoplniva a jejich isopropylmyristátové suspenze byly podrobeny strukturním a fázovým analýzám použitým pro vyhodnocení testů stability a toxicity. Z jednotlivých výsledků vycházejí následující poznatky.

Z výsledků testů stability vyplývá, že nejlepší stabilitu má suspenze nZ_BOCH01_IPM, kdy zamícháním nanoplniva do isopropylmyristátu došlo ke snížení průměrné velikosti částic. Podle výsledků hodnot Zeta potenciálu byla suspenze v průběhu času stabilní. Hodnoty Zeta potenciálu suspenze nZ_BOCH03_IPM byly sice blízko hranice nestability, přesto jí lze považovat za stabilní. Samotné nanoplnivo nZ_BOCH03 stabilitu nevykazovalo. Nanoplnivo U(ZnO(ac)) zamícháním do isopropylmyristátu nezměnilo velikost částic a podle výsledků Zeta potenciálu byla jeho suspenze v čase stabilní. Suspenze U(ZnO(ac)/V)_IPM a suspenze VM_IPM byly nestabilní z hlediska velikosti částic i výsledků Zeta potenciálu v čase. Vystavení nepřímému slunečnímu záření po dobu tří dnů při zahrnutí chyby měření nemělo vliv na stabilitu suspenzí.

Testy toxicity potvrdily netoxický charakter komerčně připravených suspenzí (nZ_BOCH01_IPM a nZ_BOCH03_IPM) a suspenze U(ZnO(ac)/V)_IPM. Nanoplnivo U(ZnO(ac)) a jeho suspenze vykazovaly nejvyšší schopnost lipoperoxidace, ale přesto je nelze považovat za toxické. Smíchání nanočástic ZnO s vermikulitem či isopropylmyristátem vede ke snížení schopnosti indukovat peroxidaci lipidů. Se zvyšující tendencí nanočástic ZnO aglomerovat, se snižuje výsledná toxicita vzorků. Vzhledem k výsledkům toxicity se dá usuzovat, že aglomerace a velikost částic je jedním z faktorů ovlivňujících toxicitu.

Z testovaných suspenzí je nejvhodnější pro využití v opalovacích přípravcích suspenze nZ_BOCH01_IPM. Suspenze je z hlediska času stabilní a má velice nízkou schopnost peroxidace lipidů. Jako druhá nejvhodnější suspenze je nZ_BOCH03_IPM, která byla stabilní a vykazovala jen mírně vyšší schopnost lipoperoxidace. Vezmeme-li do úvahy polohu absorpčního maxima UV-VIS spektra byla by považována za nejvhodnější suspenze U(ZnO(ac))_IPM. Suspenze absorbovala největší rozsah vlnových délek. Přestože vermikulit způsobil snížení toxicity nanočástic ZnO, suspenze s obsahem vermikulitu nejsou vzhledem k jejich nestabilitě vhodné pro opalovací přípravky. Využití by však mohly mít v jiných kosmetických přípravcích (např. v antibakteriální hojivých maskách). Do budoucna by bylo vhodné sledovat vliv naředění suspenzí a zamíchání nanočástic ZnO do vícesložkových emulzí/suspenzí tak, aby bylo sledováno přímé chování nanočástic ZnO v opalovacím přípravku.

Diplomová práce byla vypracována v rámci řešení projektu SGS 2019/24 „Hybridní a biodegradabilní jílové nanokompozitní materiály“.

Literatura

- [1] KLINGSHIRN, C. Zinc oxide: From fundamental properties towards novel applications. *Berlin Springer*. 2010.
- [2] BISHT, G. RAYAMAJHI, S. ZnO Nanoparticles: A promising Anticancer Agent. *Open access article: Nanomedicine*. 2016, **11**.
- [3] LEITNER, J. SEDMIDUBSKÝ, D. Příprava, vlastnosti a využití nanostrukturovaného ZnO. *Chemické listy*. 2016, **110**(6), 406-417.
- [4] KOŁODZIEJCZAK-RADZIMSKA, A. JESIONOWSKI, T. Zinc Oxide From Synthesis to Application: A Review. *Materials*. 2014, **7**(4), 2833.
- [5] XIAO, Q. HUANG, S. ZHANG, J. XIAO, Ch. TAN, X. Sonochemical synthesis of ZnO nanosheet. Letter. *Journal of Alloys and Compounds* 459, 2008, L18-L22.
- [6] LENG, J. LAN, X. LIU, Y. DU, S. Shape-memory polymers and their composites: Stimulus methods and applications. *Progress in Materials Science*. 2011, **56**(7), 1077-1135.
- [7] DE AZEREDO, H. M.C. Antimicrobial nanostructures in food packaging. *Trends in Food Science & Technology*. 2013, **30**(1), 56-69.
- [8] Properties of zinc Oxide nanopowder (zno). In: *Hongwu International Group Ltd: HWNANO Materials* [online]. [cit. 2019-03-01]. Dostupné z: <http://www.hwnanomaterial.com>.
- [9] LIONETTI, N. a L. RIGANO. The New Sunscreens among Formulation Strategy, Stability Issues, Changing Norms, Safety and Efficacy Evaluations. *Cosmetics*. 2017, **4**(2). DOI: 10.3390/cosmetics4020015. ISSN 2079-9284.
- [10] ŠTERNBERSKÝ, J. *Sluneční záření a jak se chránit před jeho negativními účinky*. Olomouc, 2016, **10**(2), 62-65.
- [11] MANAIA, E. B., R. C. K. KAMINSKI, M. A. CORRÊA a L. A. CHIAVACCI. Inorganic UV filters. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. Brasil, 2013, **49**(2).
- [12] LIM, H. W a Z. K. DRAELOS. *Clinical guide to sunscreens and photoprotection*. New York: Informa Healthcare, c2009. Basic and clinical dermatology, **43**. ISBN 1420080849.

- [13] ŠTOPLOVÁ, P. *In vitro charakteristika SPF a UVA-PF kosmetických přípravků*. Zlín, 2016. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně.
- [14] *The Burning Facts: Sunscreens* [online]. United States: Environmental Protection Agency, 2006, 6 [cit. 2019-02-06]. Dostupné z: <https://www.epa.gov>.
- [15] GOH, E.G., X. XU a P.G. MCCORMICK. Effect of particle size on the UV absorbance of zinc oxide nanoparticles. *Scripta Materialia*. 2014, **78-79**, 49-52. DOI: 10.1016/j.scriptamat.2014.01.033. ISSN 13596462.
- [16] TALAM, S., S. R. KARUMURI a N. GUNNAM. Synthesis, Characterization, and Spectroscopic Properties of ZnO Nanoparticles. *ISRN Nanotechnology*. 2012, **2012**, 1-6. DOI: 10.5402/2012/372505. ISSN 2090-6072.
- [17] Mineral Light Hydrating Sunscreen Lotion SPF 50+ (Face & Body). *Avene: EAU Thermale* [online]. USA: Pierre Fabre Dermo-Cosmetique, 2018 [cit. 2019-02-08]. Dostupné z: <https://www.aveneusa.com>.
- [18] SPF 30 Sunscreen Lotion. *Zinka: sunscreen* [online]. [cit. 2019-01-08]. Dostupné z: <https://zinka.com>.
- [19] Beauty Counter Countersun Mineral Sunscreen Lotion SPF30. *Counter Brands LLC* [online]. 2018 [cit. 2019-01-08]. Dostupné z: <https://dailymed.nlm.nih.gov>
- [20] Bare Republic SPF 30 mineral sunscreen lotion, tinted. *Essence of life: Natural food market* [online]. [cit. 2019-01-09]. Dostupné z: <https://www.essenceoflifeorganics.com>.
- [21] WAND, Mary. Nanotechnology in sunscreen unlikely to be toxic: Australian study. *The Sydney Morning Herald: Skincare* [online]. FairfaxMedia, 2018 [cit. 2018-11-30]. Dostupné z: <https://www.smh.com.au>.
- [22] AHAMED, M., M. J. AKHTAR, S. KUMAR, M. M. KHAN, J. AHMAD a S. A. ALROKAYAN. Zinc oxide nanoparticles selectively induce apoptosis in human cancer cells through reactive oxygen species. *International Journal of Nanomedicine*. DOI: 10.2147/IJN.S29129. ISSN 1178-2013.
- [23] SEITE, S., F. CHRISTIAENS, C. BREDOUX, D. COMPAN, H. ZUCCHI, D. LOMBARD, A. FOURTANIER a A.R. YOUNG. A broad-spectrum sunscreen prevents cumulative damage from repeated exposure to sub-erythral solar ultraviolet radiation representative of temperate latitudes. *Journal of the European*

- Academy of Dermatology and Venereology*. 2010, **24**(2), 219-222. DOI: 10.1111/j.1468-3083.2009.03332.x. ISSN 09269959.
- [24] SEITE, S., A. FOURTANIER, D. MOYAL a A.R. YOUNG. Photodamage to human skin by suberythral exposure to solar ultraviolet radiation can be attenuated by sunscreens: a review. *British Journal of Dermatology*. 2010, **163**(5), 903-914. DOI: 10.1111/j.1365-2133.2010.10018.x. ISSN 00070963.
- [25] Almost half of Australians confused about sunscreen. *Cancer Council Australia* [online]. 2017 [cit. 2018-12-01]. Dostupné z: <https://www.cancer.org.au>
- [26] GULSON, B., M. MCCALL, M. KORSCH, L. GOMEZ, P. CASEY, Y. OYTAM, A. TAYLOR, M. MCCULLOCH, J. TROTTER, L. KINSLEY, G. GREENOAK. Small Amounts of Zinc from Zinc Oxide Particles in Sunscreens Applied Outdoors Are Absorbed through Human Skin. *Toxicological Sciences*. 2010, **118**(1), 140-149. DOI: 10.1093/toxsci/kfq243. ISSN 1096-6080.
- [27] BAROLI, B., M. G. ENNAS, F. LOFFREDO, M. ISOLA, R. PINNA a M. A. LÓPEZ-QUINTELA. Penetration of Metallic Nanoparticles in Human Full-Thickness Skin. *Journal of Investigative Dermatology*. 2007, **127**(7), 1701-1712. DOI: 10.1038/sj.jid.5700733. ISSN 0022202X.
- [28] MOHAMMED, Y. H., A. HOLMES, I. N. HARIDASS, W. Y. SANCHEZ, H. STUDIER, J. E. GRICE, H. A.E. BENSON a M. S. ROBERTS. Support for the Safe Use of Zinc Oxide Nanoparticle Sunscreens: Lack of Skin Penetration or Cellular Toxicity after Repeated Application in Volunteers. *Journal of Investigative Dermatology*. 2018. DOI: 10.1016/j.jid.2018.08.024. ISSN 0022202X.
- [29] SZABADOS, Z. a P. AIKENS. Formulating with Zinc Oxide: Zinc Oxide - An effective and versatile broad spectrum UV absorber for sunscreens and daily wear products. *Creations Newsletter* [online]. BASF Corporation, 2015, **3** [cit. 2019-01-02]. Dostupné z: <http://creationsnewsletter.com>.
- [30] EGNER, P. Kosmetické technologie. Zvyšování exkluzivity výuky technologie tuků, kosmetiky a detergentů [online]. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 125 [cit. 2019-03-20]. DOI: CZ.1.07/2.2.00/28.0132. Dostupné z: <http://kosmetika.ft.utb.cz>.

- [31] HOLEŠOVÁ, S. ŠTEMBÍREK, J. BARTOŠOVÁ, L. PRAŽANOVÁ, G. VALÁŠKOVÁ, M. SAMLÍKOVÁ, M. PAZDZIORA, E. Antibacterial efficiency of vermiculite/chlorhexidine nanocomposites and results of the in vivo test of harmlessness of vermiculite. *Materials Science and Engineering: C*. 2014, **42**, 466-473.
- [32] GUPTA, A., H. B. ERAL, T. A. HATTON a P. S. DOYLE. Nanoemulsions: formation, properties and applications. *Soft Matter*. 2016, **12**(11), 2826-2841. DOI: 10.1039/C5SM02958A. ISSN 1744-683X.
- [33] SOUMIK, B., K. KAUSHIK, K. S. SWAPAN a K. BIDYUT. Physicochemical studies of mixed surfactant microemulsions with isopropyl myristate as oil. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2013, **402**, 180-189. DOI: 10.1016/j.jcis.2013.04.008. ISSN 00219797.
- [34] GEETHA, G., U. POOJITHA a K. ARSHAD AHMED KHAN. Various techniques for preparation of nanosuspension - a review. *International Journal of Pharma Research & Review*. India, 2014, **3**(9), 30-37. ISSN 2278-6074.
- [35] Isopropyl Myristate. *Složení-kosmetiky* [online]. 2016 [cit. 2018-10-04]. Dostupné z: <https://www.slozeni-kosmetiky.cz>.
- [36] Chemická struktura isopropyl myristát. *Koníčky, hry* [online]. 2015 [cit. 2018-10-03]. Dostupné z: <http://www.765491.com>.
- [37] Isopropyl myristate. *PubChem: Open chemistry database* [online]. USA: National Center for Biotechnology Information, 26-03-2005 [cit. 2019-02-04]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>.
- [38] Isopropyl myristate. *Sigma Aldrich* [online]. Germany: Merck, 2019 [cit. 2019-01-05]. Dostupné z: <https://www.sigmaaldrich.com>.
- [39] RAJESHKUMAR, N. V., A. O. ANNAMMA a M. L. ARVIND. Green synthesis of isopropyl myristate in novel single phase medium Part I: Batch optimization studies. *Biotechnology Reports*. 2015, **8**, 133-137. DOI: 10.1016/j.btre.2015.10.006. ISSN 2215017X.
- [40] Isopropyl Myristate. *The Derm Review* [online]. 28-09-2018 [cit. 2018-12-08]. Dostupné z: <https://thederreview.com>.

- [41] ALVES, J. S., C. GARCIA-GALAN, D. DANELLI, N. PALUDO, O. BARBOSA, R. C. RODRIGUES a R. FERNANDEZ-LAFUENTE. Use of Lecitase-Ultra immobilized on styrene-divinylbenzene beads as catalyst of esterification reactions: Effects of ultrasounds. *Catalysis Today*. 2015, **255**, 27-32. DOI: 10.1016/j.cattod.2014.11.036. ISSN 09205861.
- [42] FALLAVENA, L. P., F. H. F. ANTUNES, J. S. ALVES, N. PALUDO, M. A. Z. AYUB, R. FERNANDEZ-LAFUENTE a R. C. RODRIGUES. Ultrasound technology and molecular sieves improve the thermodynamically controlled esterification of butyric acid mediated by immobilized lipase from *Rhizomucor miehei*. *RSC Advances*. 2014, **4**(17). DOI: 10.1039/c3ra47315e. ISSN 2046-2069.
- [43] VERMA, M., G. CHAUHAN a S. KANWAR. Enzymatic synthesis of isopropyl myristate using immobilized lipase from *Bacillus cereus* MTCC 8372. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*. 2008, **55**(3), 327-342. DOI: 10.1556/AMicr.55.2008.3.4. ISSN 1217-8950.
- [44] VALÉRIO, A., R. L. KRÜGER, J. NINOW, F. C. CORAZZA, D. DE OLIVEIRA, J. V. OLIVEIRA a M. L. CORAZZA. Kinetics of Solvent-Free Lipase-Catalyzed Glycerolysis of Olive Oil in Surfactant System. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2009, **57**(18), 8350-8356. DOI: 10.1021/jf901771m. ISSN 0021-8561.
- [45] YADAV, G. D a A. D SAJGURE. Synergism of microwave irradiation and enzyme catalysis in synthesis of isoniazid. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*. 2007, **82**(11), 964-970. DOI: 10.1002/jctb.1738. ISSN 02682575.
- [46] PETERS, G. H., D. M. VAN AALTEN, A. SVENDSEN a R. BYWATER. Essential dynamics of lipase binding sites: the effect of inhibitors of different chain length. *Protein Engineering Design and Selection*. 1997, **10**(2), 149-158. DOI: 10.1093/protein/10.2.149. ISSN 1741-0126.
- [47] RAJESHKUMAR, N. V., A. O. ANNAMMA a M. L. ARVIND. Green synthesis of isopropyl myristate in novel single phase medium Part II: Packed bed reactor (PBR) studies. *Biotechnology Reports*. 2015, **8**, 105-109. DOI: 10.1016/j.btre.2015.10.005. ISSN 2215017X.

- [48] Propylene Glycol Dicaprylate/Dicaprate. *Truth in aging: The honest truth about beauty and personal care products* [online]. [cit. 2018-10-04]. Dostupné z: <https://www.truthinaging.com>.
- [49] BENVENUTI, N. Z. Why Homemade Sunscreens are Nonsense: Raspberry Seed Oil, Coconut Oil, Almond Oil. In: *FutureDerm* [online]. 2017 [cit. 2019-03-01]. Dostupné z: <https://www.futurederm.com>.
- [50] SARAF, S. a C.D. KAUR. In vitro sun protection factor determination of herbal oils used in cosmetics. *Pharmacognosy Research*. 2010, **2**(1). DOI: 10.4103/0974-8490.60586. ISSN 0974-8490.
- [51] VALASKOVÁ, M. a G. SIMHA MARTYNKOVÁ. Vermiculite: Structural Properties and Examples of the Use. *Clay Minerals in Nature - Their Characterization, Modification and Application*. InTech, 2012, 2012-09-12. DOI: 10.5772/51237. ISBN 978-953-51-0738-5.
- [52] VALÁŠKOVÁ, M. *Vybrané vrstevnaté silikáty a jejich modifikované nanomateriály*. 2., dopl. a opr. vyd. Brno: Akademické nakladatelství CERM, 2014. ISBN 978-80-7204-886-1.
- [53] ČECH BARABASZOVÁ, K., H. RAJHELOVÁ, J. SMIJOVÁ a M. HUNDÁKOVÁ. Toxicity of the Zinc Oxide and Vermiculite/Zinc Oxide Nanomaterials. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*. 2019, **19**(5), 2977-2982. DOI: 10.1166/jnn.2019.15845. ISSN 1533-4880.
- [54] HOLEŠOVÁ, S. ŠTEMBÍREK, J. BARTOŠOVÁ, L. PRAŽANOVÁ, G. VALÁŠKOVÁ, M. SAMLÍKOVÁ, M. a E. PAZDZIORA. Antibacterial efficiency of vermiculite/chlorhexidine nanocomposites and results of the in vivo test of harmlessness of vermiculite. *Materials Science and Engineering: C*. 2014, **42**, 466-473.
- [55] THAO, H.-M. *Characterization of Clays and Clay Minerals for Industrial Application: Substitution non-Natural Additives by Clays in UV Protection*. Germany, 2006. Disertační práce. Ernst Moritz Arndt University Greifswald.
- [56] ŠVRČEK, J., L. BIERSKÁ, M. SOUČEK a J. KRÝSA. Nanoscale zinc oxide - high perspective nanomaterial. *NANOCON*. BOCHEMIE a.s., Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2014, 6 s.

- [57] TOMÁŠOVÁ, L. DYNO-MILL RL: RESEARCH LAB perlový mlýn pro výzkum a vývoj. *Tomášová Lea s.r.o.: průmyslová zařízení* [online]. 2007 [cit. 2019-02-18]. Dostupné z: <http://www.tomasovalea.cz>.
- [58] Triple Roll Mills. In: *E.j.payne: ceramic* [online]. United Kingdom [cit. 2019-02-19]. Dostupné z: www.ejpayne.com.
- [59] Sodium Carbonate: ATR-FT-IR spectra of Sodium Carbonate. *Database of ATR-FT-IR spectra of various materials* [online]. Institute of Chemistry University of Tartu, Estonia: Themes and CO, 2015 [cit. 2019-04-24].
- [60] ANBU CHUDAR AZHAGAN, S. a S. GANESAN. Effect of zinc acetate addition on crystal growth, structural, optical, thermal properties of glycine single crystals. *Arabian Journal of Chemistry*. 2017, **10**, S2615-S2624. DOI: 10.1016/j.arabjc.2013.09.041. ISSN 18785352.
- [61] ISHIOKA, T., Y. SHIBATA, M. TAKAHASHI a I. KANESAKA. Vibrational spectra and structures of zinc carboxylates II. Anhydrous zinc acetate and zinc stearate. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 1998, **54**(12), 1811-1818. DOI: 10.1016/S1386-1425(98)00061-4. ISSN 13861425.
- [62] Isopropyl myristate (110-27-0)IR2: Product Basic Information. *Chemical Book* [online]. 2017 [cit. 2019-04-10]. Dostupné z: <https://www.chemicalbook.com>.
- [63] SOCRATES, G. Infrared and Raman Characteristic Group Frequencies: Tables and Charts. *John Wiley & Sons Ltd*. England. ISBN 978-0-470-09307-8.
- [64] HUŠÁK, M. ROHLÍČEK, J. ČEJKA J. KRATOCHVÍL, B. Řešení krystalové struktury z rtg práškových difrakčních dat - nespílitelný sen nebo každodenní praxe? *Chemické listy*. Praha, 2007, **101**(697-705), 9.
- [65] POLČÍK, M. Sledování nanášení barviva pomocí měření Zeta-potenciálu. *Chemmagazín*. Praha, 2010M, **20**(4), 28-29.
- [66] CORAZZARI, I. DEORSOLA, F.A. GULINO, G. ALDIERI, E. BENSAID, S. TURCI, F. a D. FINO. Hazard assessment of W and Mo sulphide nanomaterials for automotive use. *Journal of Nanoparticle Research*. 2014, **16**(5).